Aus der Medizinischen Universitätsklinik in Marburg
Direktor: Professor Dr. med. G. A. Martini

Untersuchungen über die Änderung der Knochenzusammensetzung bei Ratten mit Corticosteroid-Osteopathie nach prophylaktischer Verabreichung von Östrogenen und Calcium

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Medizin

dem Fachbereich Humanmedizin der
Philipps-Universität zu Marburg

vorgelegt von

Peter Eisenberg
aus Bielefeld

Marburg 1973

Druck: Görich & Weiershäuser, Marburg

Aus der Medizinischen Universitätsklinik in Marburg
Direktor: Professor Dr. med. G. A. Martini

Untersuchungen über die Änderung der Knochenzusammensetzung bei Ratten mit Corticosteroid-Osteopathie nach prophylaktischer Verabreichung von Östrogenen und Calcium

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Medizin

dem Fachbereich Humanmedizin der
Philipps-Universität zu Marburg

vorgelegt von

Peter Eisenberg
aus Bielefeld

Marburg 1973

Druck: Görich & Weiershäuser, Marburg

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Angenommen vom Fachbereich Humanmedizin der
Philipps-Universität Marburg am 21. August 1973

gedruckt mit Genehmigung des Fachbereiches

Dekan: Prof. Dr. H. Oepen
Referent: Doz. Dr. H.-H. Goßmann
Correferent: Prof. Dr. G. Strohmeyer

Meinen Eltern

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546018_0051

INHALTSVERZEICHNIS

I. Das Osteoporose-Problem — Seite

1. Vorbemerkungen über die Zunahme des Interesses an der Osteoporose 1

a) Skizzierung der Geschichte der Osteoporose-Forschung 1
b) Häufigkeit der Osteoporose 2
c) Entwicklung objektiver diagnostischer Methoden 2
d) Verbesserte Aussichten auf therapeutische Beeinflussung der Osteoporose 5
e) Bemerkungen über den Stand der Osteoporose-Forschung 5

2. Definition und Diagnostik der Osteoporose und Abgrenzung von den übrigen metabolischen Osteopathien 6

a) Morphologie der Osteoporose 7
b) Zur klinischen Diagnostik der metabolischen Osteopathien - Mischformen - 9

3. Vorkommen der Osteoporose 12

a) Die "klassischen" Einteilungen 13
b) Versuch einer Systematik der Osteoporose-Formen ... 14

4. Die Notwendigkeit der Differenzierung zwischen einzelnen Osteoporose-Formen, nahegelegt durch 17

a) Verschiedene Lokalisations- bzw. Entwicklungstypen. 17
b) Unterschiede in Krankheitswert, Prognose und Therapie 19

5. Die pathogenetischen Hypothesen 20

a) Die Knochenmatrix-Hypothese 20
b) Die Calcium-Mangel-Hypothese 21
c) Die Osteoporose als Regulationsstörung des Knochenstoffwechsels 21

II. Die Corticosteroid-Osteopathie

Seite

1. Bemerkungen über die klinische Bedeutung der Steroid-Osteopathie; die übrigen Corticosteroid-Schäden am Skelett 26

2. Auftreten und Häufigkeit der Steroid-Osteopathie 27

3. Die Pathogenese der Steroid-Osteopathie 29

a) Erhöhte faecale Calcium-Ausscheidung 31
b) Erhöhte renale Calcium-Ausscheidung 32
c) Primär gesteigerte Knochenresorption 32
d) Verminderter Knochenanbau 33
e) Veränderungen der Knochensubstanz 35

4. Probleme der Beurteilung des Therapieerfolgs bei der Steroid-Osteopathie 36

a) Physiologische Variabilität 36
b) Symptomatische - kausale Behandlung 37
c) Eingeschränkte Reversibilität; Ableitung der Aufgabenstellung für den Tierversuch 38

III. Experimenteller Teil

1. Anlage des Versuchs 42

a) Vorbehandlung der Versuchstiere 42
b) Gewinnung des Untersuchungsmaterials 42
c) Quantitativ-chemische Analysen 43

1. Calcium-Bestimmung
2. Phosphor-Bestimmung
3. Hydroxyprolin-Bestimmung

2. Durchführung und methodische Probleme bei

a) der Vorbehandlung der Versuchstiere 44
b) der Behandlung des Untersuchungsmaterials 46
c) den quantitativ-chemischen Analysen 53

1. Calcium-Bestimmung 55
2. Phosphor-Bestimmung 57
3. Hydroxyprolin-Bestimmung 59

Seite

3. Ergebnisse 61

a) Tabellarische Darstellung der Ergebnisse 61

1. Serie I 61
2. Serie II 68
3. Serie III 73

b) Statistische Auswertung - signifikante Unterschiede zwischen einzelnen Versuchsgruppen 78

IV. Diskussion

1. Körpergewicht bzw. Körpergewichtszunahme 82
2. Calcium im Serum 85
3. Anorganisches Phosphat im Serum 87
4. Alkalische Phosphatase im Serum 89
5. Frischgewicht des Femurs 93
6. Trockengewicht bzw. Wassergehalt des Femurs 94
7. Fettgehalt im Femur 95
8. Fettfreie Trockensubstanz im Femur 95
9. Organische und fettfreie organische Substanz sowie Kollagengehalt im Knochen; Verhältnis Kollagen/fettfreie organische Substanz 95
10. Mineralsalzgehalt im Knochen 103
11. Calcium- und Phosphor-Gehalt und Ca/P-Quotient im Knochen 106

V. Zusammenfassung 112

VI. Literaturverzeichnis I

I. Das Osteoporose-Problem

1. Vorbemerkungen über die Zunahme des Interesses an der Osteoporose

In den letzten Jahren hat die Osteoporose in erheblichem Maße an Bedeutung gewonnen. Dazu dürften unter anderem die folgenden Ursachen wesentlich beigetragen haben:

a) Skizzierung der Geschichte der Osteoporoseforschung

Seit der eingehenden Darstellung der metabolischen Knochenkrankheiten durch ALBRIGHT und REIFENSTEIN / 4 / bestehen erstmals übersichtliche und zusammenhängende Deutungen der Pathogenese der wichtigsten generalisierten Knochenerkrankungen. Von ALBRIGHT und Mitarbeitern wurde der Osteoporose, die anatomisch erstmals 1885 durch POMMER / 124 / von der Osteomalacie und 1924 durch POMMER, KIENBÖCK und LOOSER / 125 / von anderen Osteopathien abgegrenzt worden war, auch klinisch der ihr gebührende Rang eingeräumt. Während bisher in der Osteoporose eine "mehr oder weniger schicksalhafte Veränderung, die sich mit zunehmendem Alter entwickelte und gegen die kaum etwas unternommen werden konnte" (JESSERER / 87 /), gesehen worden war, hat man ihr seit ALBRIGHT einen mehr oder weniger großen Krankheitswert beigemessen.

Wenn die ALBRIGHTschen Vorstellungen auch keineswegs unwidersprochen geblieben sind, konnten sie doch einen Ausgangspunkt für die weitere Erforschung des Knochenstoffwechsels und seiner Störungen abgeben, und es dauerte fast zwei Jahrzehnte, bis sich eine andere, scheinbar entgegengesetzte Hypothese herausbildete, die hauptsächlich von NORDIN vertreten wurde. Seither bestehen beide Auffassungen in verschiedenen Variationen neben-

einander, jede anscheinend durch eine Fülle experimenteller Befunde belegt.

b) Häufigkeit der Osteoporose

Schon in den Jahren in und nach dem Zweiten Weltkrieg war eine Häufung der Osteoporose-Fälle aufgefallen, im Gegensatz zum Ersten Weltkrieg, in dessen Gefolge vor allem zahlreiche Osteomalacie- und Spätrachitisfälle aufgetreten waren (BARTELHEIMER / 12 /).

Heute ist die Osteoporose keineswegs selten, sie gilt als die "häufigste generalisierte Knochenerkrankung" (EGER / 52 /) beziehungsweise die "gewöhnlichste und am meisten invalidisierende metabolische Knochenkrankheit" (DENT und FRIEDMAN / 42 /). Die Häufigkeit ihres Auftretens ist Gegenstand zahlreicher Untersuchungen gewesen, deren Ergebnisse abhängig sind von Alter und Geschlecht der untersuchten Population sowie von den angewandten diagnostischen Kriterien. Untersuchungen in den USA haben in der Altersgruppe über 65 Jahre eine Inzidenz von 15 bis 50 % Osteoporosen ergeben. Allein die Zahl der schweren Fälle mit Wirbelfrakturen wird dort auf über 4 Millionen geschätzt (NEVINNY / 115 /). Gesicherte Zahlen über die Häufigkeitsentwicklung liegen nicht vor, jedoch spricht einiges für eine echte Zunahme der Osteoporosehäufigkeit, zum Beispiel die höhere Lebenserwartung, die zwangsläufig zu einem Hervortreten der Alterskrankheiten führt - als solche kann, cum grano salis, die Osteoporose gelten - sowie die Zunahme der Corticosteroid-Dauerbehandlungen, deren wichtigste Nebenwirkung die "Steroid-Osteoporose" darstellt.

c) Entwicklung objektiver diagnostischer Methoden

Zu neuen Erkenntnissen hat besonders auch eine verbesserte und spezialisierte Diagnostik beigetragen. Während

bis vor einiger Zeit die Diagnose "Osteoporose" meist aufgrund des subjektiven Eindrucks, den der Untersucher von entsprechenden Röntgenaufnahmen hatte, gestellt wurde, stehen heute objektive Methoden zur Verfügung. Die Notwendigkeit der Entwicklung solcher objektiver Methoden war offensichtlich geworden, nachdem feststand, daß erst eine Verminderung der Mineralsalzdichte um 30 bis 60 % eine sichere Erkennung der Skelettveränderung aus der Betrachtung des Röntgenbildes ermöglichte (THIEMANN / 154 /), und nachdem in einer Studie von WAGNER & SCHAAF / 162 / gezeigt worden war, daß nicht nur hinsichtlich der Frage, ob in einem Röntgenbild eine Osteoporose vorlag, jeweils zwei von drei Untersuchern bei einem Drittel aller Röntgenaufnahmen verschiedener Auffassung waren, sondern sogar derselbe Untersucher bei wiederholter Betrachtung desselben Röntgenbildes in 20 % zu einer von seiner ursprünglichen Meinung abweichenden Beurteilung kam.

Bezüglich der Differenzierung der Osteoporose von anderen Osteopathien betont BARTELHEIMER / 9 /, daß "wohl auf keinem Gebiet der inneren Medizin so häufig Fehldiagnosen gestellt werden wie auf diesem".

Abgesehen von aufwendigeren Verfahren wie Bilanzuntersuchungen und Isotopenstudien, die wegen des erheblichen Aufwandes spezialisierten Kliniken vorbehalten bleiben, sind es vor allem zwei Wege, die zu quantitativen Aussagen über das Ausmaß einer bestehenden Osteoporose führen können und einer breiteren Anwendung zugänglich sind:

1. Es wurden zahlreiche röntgenologische Methoden zur Diagnostik der Osteoporose angegeben, zum Beispiel die Bestimmung der Corticalisdicke an Femur und Metacarpale II im Verhältnis zum Querdurchmesser des betreffenden Röhrenknochens im Röntgenbild und die Bestimmung des Bikon-

kavitätsgrades der Lendenwirbelkörper im Tomogramm (BARNETT und NORDIN / 6 /) oder die Technik der Densiometrie (NORDIN et al. / 119 /), wobei auf Röntgenaufnahmen die Wirbelkörperdichte mit der Dichte der Zwischenwirbelscheiben verglichen wird. Den bei den meisten Methoden auftretenden Fehler durch unterschiedlich starke Weichteilumgebung vermeidet KROKOWSKI / 93 / durch Anwendung differenter Strahlenqualitäten (zum Beispiel 50 und 200 kV), wodurch eine gute Reproduzierbarkeit der Mineralsalzdichtebestimmung am wichtigsten Knochenorgan, der Wirbelsäule, ermöglicht wird.

Damit sind heute die Voraussetzungen zur Diagnostik einer wenig ausgeprägten Osteoporose und zur Verifizierung schon geringer Besserungen der Mineralsalzdichte unter der Therapie gegeben.

2. Es stehen Möglichkeiten zur schonenden Gewinnung eines Knochenzylinders aus dem Beckenkamm zur Verfügung, zum Beispiel mit dem Myelotomiegerät nach BURKHARDT / 27 / oder mit der von BARTELHEIMER & PAPAGEORGIU / 13 / beschriebenen Methode. Die Beckenschaufel ist für diesen Zweck besonders geeignet, da diese bei Osteoporose fast immer befallen (JESSERER / 85 /), außerdem leicht zugänglich ist und das Ausmaß der hier gefundenen Spongiosararefizierung mit dem Grad der Osteoporose in den Lendenwirbelkörpern gut übereinstimmt (BELL et al. / 17 /; schließlich fand NORDIN ein lebenszeitlich gleiches Verhalten und ein identisches spezifisches Gewicht von Bekkenkamm- und Wirbelkörper-Spongiosa / 118 /.

Die an die Beckenkammbiopsie anzuschließende histologische Untersuchung kann, von anderen Möglichkeiten abgesehen, mittels morphometrischer Methoden (z.B. BECK & NORDIN / 15 /) ebenfalls quantitative Aussagen ermöglichen, besonders in Kombination mit der intravitalen Tetracyclin-Markierung (MILCH et al. / 110 /), wodurch

eine fluoreszenzmikroskopische Markierung der gerade im Beginn der Mineralisation befindlichen Zonen erreicht wird (EGER et al. / 53 /). Gerade die Tetracyclin-Markierung hat die morphometrische Untersuchung bereichert, indem sie zu den bisher bestimmbaren statischen Größen (z.B. Ausmaß einer Osteoporose) die biologisch wichtigeren dynamischen Größen (z.B. Ausmaß des Knochenumbaus im Verhältnis zur Zeit) zu messen gestattet: Knochen-Biodynamik nach FROST et al. / 61 /.

d) Verbesserte Aussichten auf therapeutische Beeinflussung der Osteoporose

Durch die Entwicklung gut resorbierbarer Calcium-Verbindungen und von Hormonen, deren anabole Wirksamkeit in Relation zu ihrer sexualspezifischen Wirkung um ein Vielfaches gesteigert werden konnte, wird heute eine medikamentöse Behandlung der Osteoporose versucht, die den beiden hauptsächlich vertretenen pathogenetischen Theorien entspricht. Die Berechtigung und die Erfolge dieser Therapieformen, auf die noch näher eingegangen werden soll, sind allerdings noch Gegenstand heftiger Auseinandersetzung.

Andere Maßnahmen, wie unterstützende physikalische Therapie, sind weniger umstritten und ebenso wichtig.

e) Bemerkungen über den heutigen Stand der Osteoporose-Forschung

Obwohl manche Veröffentlichungen den Eindruck erwecken könnten, als habe die intensive Osteoporose-Forschung zu einer vollständigen Aufklärung der pathogenetischen Zusammenhänge geführt und obwohl tatsächlich eine große Zahl experimenteller und klinischer Beobachtungen vorliegt, wird demgegenüber doch von unvoreingenommenen Autoren festgestellt, daß "wir erstaunlicherweise den Mechanismus (der Osteoporose) nicht kennen" (FOURMAN / 60 /),

daß sich "unsere Vorstellungen über die generalisierten Skelett-Erkrankungen in einigen grundsätzlichen Punkten zu wandeln beginnen" (KUHLENCORDT / 98 /) oder daß "wir heute bedeutend weniger wissen über dieses häufige Skelettleiden, als wir noch vor wenigen Jahren glaubten zu wissen" (HAAS / 69 /, MC LEAN / 108 /).

Diese Situation soll zum Anlaß genommen werden, die bisher aufgestellten Hypothesen anhand der vorliegenden Untersuchungsbefunde neu zu überdenken und, wenn möglich, mit den durchgeführten Tierversuchen einen eigenen Beitrag zu diesem Problem zu leisten.

2. Definition und Diagnostik der Osteoporose und Abgrenzung von den übrigen metabolischen Osteopathien

Als Ausgangspunkt jeder Untersuchung über Osteoporose hat zunächst eine allgemein gültige, von pathogenetischen Hypothesen freie, pathologisch-anatomische Definition zu stehen. Den so definierten pathologischen Zustand gilt es sodann von anderen, unter Umständen damit verwechselbaren, Knochenstrukturveränderungen zu differenzieren. Dies muß besonders betont werden, weil die Nichtbeachtung dieser Forderung zu den bestehenden Unklarheiten beigetragen hat. So ist die mit röntgenologischen Methoden festgestellte Diagnose "Osteoporose" keineswegs identisch mit der histologischen Diagnose, sondern kann vielmehr bei sehr unterschiedlichen und wohl definierten Osteopathien auftreten, zum Beispiel außer bei der eigentlichen Osteoporose auch bei Osteomalacie, bei Hyperparathyreoidismus und bei der Plasmocytose (JESSERER / 88 /). Diese Feststellung bedeutet keine Wertminderung der radiologischen Diagnostik, sie verlangt aber, die röntgenologisch gestellte Diagnose "Osteoporose" als "röntgenologische Osteoporose" (BARTELHEIMER / 11 /) oder als "calcipenische bzw.

halipenische Osteopathie" (BARTELHEIMER / 8 /) zu kennzeichnen.

Andererseits sind Widersprüche unvermeidbar, wenn ein Teil der Autoren (meines Erachtens zu Recht) von der Röntgenstrahlendichte des Knochens ausgehen, wenn das Ausmaß einer Osteoporose bestimmt werden soll (beispielsweise KROKOWSKI / 96 /), während andere die klinische Symptomatik höher bewerten als die Ergebnisse von Röntgenuntersuchungen (zum Beispiel BARTELHEIMER / 10 /). Es sollte keinem Zweifel unterliegen, daß den unter 1. c) (Seite 3-4) erwähnten objektiven Untersuchungsmethoden der Vorzug zu geben ist gegenüber der klinischen Symptomatik mit den dazugehörenden subjektiven Angaben der Patienten.

a) Morphologie der Osteoporose

Pathologisch-anatomisch ist nun der osteoporotische Knochen gekennzeichnet durch eine Verminderung der Masse an Knochengewebe, bezogen auf die Volumeneinheit des Knochenorgans (nach FOURMAN / 60 /), weshalb man diesen Zustand auch mit "Osteopenie" zutreffend bezeichnen kann. Zu dem Bild der Osteoporose kommt es durch ein Mißverhältnis zwischen Knochenauf- und -abbau, wobei der Abbau bilanzmäßig den Anbau überwiegt und zu abnormer Brüchigkeit der knöchernen Organe führt (ALBRIGHT 1940).

Durch welche Ursache und auf welchem Weg diese negative Knochenbilanz zustande kommt, ist das Hauptthema der Auseinandersetzungen. Morphologisch sind dabei im wesentlichen folgende Veränderungen zu beobachten (EGER / 52 /): Am Röhrenknochen wird zunächst die Spongiosa rarefiziert, das heißt, die Trabekelbreite nimmt ab, und die Zahl der Knochenbälkchen wird vermindert. Im Wirbelkörper werden zuerst die Querverstrebungen reduziert (BELL et al. / 17 /). Später als der Spongiosaschwund setzt die Abnahme der

Compactadicke ein, indem die inneren Generallamellen der Compacta "sekundär spongiosiert" (JESSERER / 85 /) werden. Gleichzeitig werden HAVERSsche Kanäle zu Resorptionshöhlen ausgeweitet (EGER / 52 /). Die äußere Form des Knochens bleibt auch bei starker Osteoporose erhalten (NORDIN / 118 /: "excentrische Knochenatrophie"), solange es nicht zu Komplikationen kommt, wie zum Beispiel Kompressionsfrakturen der Wirbelkörper. BELL et al. / 17 / fanden, daß die Brüchigkeit des osteoporotischen Knochens schneller zunahm, als der Abnahme der Knochendichte (gemessen als relatives Aschegewicht) entsprach. Diese Beobachtung könnte damit zusammenhängen, daß erst bei einem gewissen Ausmaß der Osteoporose die Trabekelzahl vermindert wird, während bis dahin lediglich eine Abnahme der Bälkchenbreite eingetreten war.

Die Frage, ob die vorhandene Knochensubstanz bei Osteoporose von normaler chemischer und histologischer Beschaffenheit ist, wie dies lange Zeit als sicher galt (NORDIN / 118 /), wird heute nicht mehr einhellig bejaht: Anhaltspunkte für das Auftreten nicht nur quantitativer, sondern auch qualitativer Unterschiede geben unter anderem die Arbeiten von JESSERER / 87 /; FOURMAN / 60 /; BERNICK & ERSHOFF / 18 /; WRAY et al. / 169 /; LITTLE / 105 /; BOHR / 21 /; DOLLERUP / 45 /. Dabei wird jedoch noch zu häufig von der Vorstellung ausgegangen, daß es sich bei der Osteoporose um ein umschriebenes Krankheitsbild handelt, was, wie noch zu zeigen ist,nicht zutrifft. Histologisch oder chemisch eindeutig abgrenzbar von der Osteoporose sind dagegen die beiden anderen wichtigen metabolischen Osteopathien: Osteomalacie und Osteodystrophie (als Folge eines primären oder sekundären Hyperparathyreoidismus), wobei weniger klar ist, warum nur in einem Teil der Fälle (nach HEGGLIN / 76, Seite 819 / in 25 - 33 %) von HPT die ossäre Form gefunden

wird. Möglicherweise spielen hierbei die Entwicklungsdauer des Krankheitsbildes sowie die alimentäre Calcium-Zufuhr eine modifizierende Rolle (COURVOISIER / 37 /), indem eine erhebliche Parathormonhypersekretion bei gleichzeitig minimaler Calcium-Zufuhr zum typischen Bild der fibrösen Osteodystrophie führt, während ein sich allmählich entwickelnder, weniger ausgeprägter HPT bei reichlicher Calcium-Zufuhr zu einem weniger überstürzten Knochenabbau und damit zu einem der einfachen Osteoporose ähnelnden Zustand führt (NORDIN / 117 /).

Es ist durchaus denkbar, daß sich der Prozentsatz der Knochenbeteiligung bei HPT durch routinemäßige Einbeziehung einer quantitativen röntgenologischen Methode oder der histologischen Untersuchung nach Knochenbiopsie als höher erweist, als mit den bisher üblichen Methoden diagnostizierbar war. Tatsächlich fand UEHLINGER / 157 / bei primärem Hyperparathyreoidismus histologisch nie einen normalen Knochen.

b) Zur klinischen Diagnostik der metabolischen Osteopathien - Mischformen -

Wenn auch als Ausgangspunkt der Osteoporoseforschung die Bedeutung der pathologisch-anatomischen beziehungsweise histologischen Diagnose betont wird, so muß doch andererseits aus praktischen Erwägungen die klinische Osteoporosediagnostik in zahlreichen Fällen ohne die Entnahme einer Knochenbiopsie auskommen. Im allgemeinen ist dies an Hand der anamnestischen, klinischen, röntgenologischen und Laborbefunde durchaus erreichbar. Ein bei Erhebung der Anamnese und Durchführung der klinischen Untersuchung aufgetauchter Verdacht auf Vorliegen einer Osteoporose (unter anderem Verminderung der Körpergröße, Ermüdungsschmerz der Wirbelsäule und des Beckens, quere Bauchfalte, Eintauchen der unteren Rippen ins Abdomen, pathologische Frakturen an Wirbelsäule und

Schenkelhals, Rundrückenbildung, vorsichtiger Gang, scheinbare Verlängerung der oberen Extremitäten) kann röntgenologisch im genannten einschränkenden Sinn der "röntgenologischen Osteoporose" weiter erhärtet werden. Zusätzlich zu der diffusen Verminderung der Strahlendichte können im Skelett-Röntgenbild weitere, sehr charakteristische, jedoch nicht obligate Veränderungen gefunden werden, zum Beispiel an den Wirbelkörpern verstärkte vertikalsträhnige Struktur, Abschlußplatteneindellung und -einbrüche, Keil- und Fischwirbel.

In Fällen von Osteomalacie treten zu teilweise ähnlichen Zeichen weitere, charakteristische Symptome hinzu, insbesondere eine höhere Plastizität, vor allem der Rippen, aber auch des übrigen Skeletts, außerdem Schmerzen, die nicht auf den Rücken beschränkt sind, sondern auch Inguinalgegend, Rippen und Schultern betreffen. Auch röntgenologisch ist eine Differenzierung gegenüber der Osteoporose oft möglich. Neben der "röntgenologischen Osteoporose" findet sich eine verschwommene Zeichnung der Skelett-Anteile, von HEGGLIN / 76, Seite 825 / treffend "RENOIR-Aspekt" genannt; naturgemäß fallen die schon klinisch feststellbaren Knochenverbiegungen im Röntgenbild stärker ins Auge, und schließlich können LOOSER-MILKMANsche Umbauzonen sichtbar werden.

Auf die verschiedenen Formen des Hyperparathyreoidismus, die isoliert oder kombiniert auftreten können, soll nicht weiter eingegangen werden. Anamnestische und klinische Hinweise sind, soweit sie das Skelettsystem betreffen, spärlich.

Hier können die Ergebnisse der Laboruntersuchungen weiterhelfen, die zusammen mit den übrigen Kriterien in vielen Fällen die Diagnose einer metabolischen Osteopathie klinisch sicherstellen können. Die endgültige Verifizierung kann aber nur durch die histologische Untersuchung

Tabelle 1:

Parameter des Mineralstoffwechsels bei Osteopathien

(nach BARTELHEIMER / 9 /, ergänzt)

	CaS	PS	AP	CaH	PH	OHP
Osteoporose	n +	n	n	- n +	n	n +
Osteomalacie	- n	- n	n +	- n	n +	+
primärer HPT	+	-	+	+	n +	+
sekundärer HPT	- n	+	+	- n +	- n +	+
hyperthyreote Osteopathie	n (+)	n	n (+)	+	- n	+
multiples Myelom	n +	-		+	+	+
Skelett-Carcinose	n +	n +	n +	n +	+	
Morbus BOECK	n +	-		+	+	

- = vermindert n = normal + = vermehrt

CaS = Calcium im Serum

PS = anorganischer Phosphor im Serum

AP = alkalische Phosphatase im Serum

CaH = Calcium im Harn

PH = Phosphor im Harn

OHP = Hydroxyprolin im Harn

erfolgen, die in allen Zweifelsfällen erforderlich ist. Sofern einzelne Parameter des Mineralstoffwechsels verändert sein können, sind in die Tabelle 1 auch Osteopathien aufgenommen worden, deren histologische Differenzierung im allgemeinen durchaus möglich ist, vorausgesetzt, daß der gewonnene Knochenzylinder die pathologische Strukturveränderung enthält, an der ein Großteil des Skeletts erkrankt ist. Einen Überblick über die wesentlichen Laborwerte bei den Grundtypen der metabolischen Osteopathien gibt Tabelle 1 (nach BARTELHEIMER / 9 /, ergänzt). Sicherlich gibt es einen nicht geringen Anteil kombinierter Störungen des Knochenaufbaus, wobei Osteoporose, Osteomalacie und Osteodystrophie in wechselndem Ausmaß gleichzeitig vorliegen. Nach BARTELHEIMER / 9 / kommen Mischformen "sehr viel häufiger vor als die reine Ausprägung der Grundtypen". Für manche der später (S. 14 f.) aufzuführenden Osteopathien sind kombinierte Formen geradezu typisch:

a) So können Kennzeichen aller drei Grundtypen tragen:

1. die hyperthyreote Osteopathie (WYSS / 170 /),

2. die renale Osteopathie (GOSSMANN et al. / 66 /).

b) Mischformen aus Porose und Malacie (Osteoporomalacie nach BARTELHEIMER / 12 / oder "malacische Osteoporose" nach EGER / 52 /) sind typisch für

1. Hunger-Osteopathie,

2. Enterale Osteopathien:

Zustand nach Magenresektion; Achylie; chronische Enteritis; chronische Pankreatitis (BARTELHEIMER / 12 /); Malabsorptionssyndrom (NORDIN / 118 /).

c) Zwischen den Extremen Osteomalacie und Osteodystrophie variiert gewöhnlich das Bild der

1. renalen Osteopathie (STANBURY / 145 /).

d) Schließlich betrachtet NORDIN / 117 / die Osteoporose und die Osteodystrophie als Grenzzustände, zwischen denen sich das Bild des

1. Hyperparathyreoidismus manifestieren kann.

Für die Erforschung der Osteoporose werden neben den eben genannten Untersuchungen und den früher erwähnten quantitativen Methoden einschließlich einer Dichtemessung durch Ultraschall (RICH / 134 /) ferner erweiterte Laboruntersuchungen (Hormonbestimmungen; Calcium-Infusionstest, zum Beispiel nach HAAS / 68 /), Isotopen-Stoffwechselstudien, Bilanz-Untersuchungen, histochemische, fluoreszenz- und elektronenmikroskopische und mikroradiographische Untersuchungen sowie chemische und biochemische Bestimmungen angewendet, um nur einige zu nennen. Diese Methoden, die im allgemeinen zu aufwendig für die routinemäßige Anwendung sind, haben zu den heutigen Vorstellungen über die Pathogenese der Osteoporose geführt und lassen weitere Ergebnisse erwarten.

3. Vorkommen der Osteoporose

Bevor auf die Pathogenese der Osteoporose eingegangen wird, erscheint es sinnvoll, zunächst die Krankheitsbilder und Zustände aufzuführen, die mit einer Osteoporose verbunden sein können und deshalb ätiologisch in Frage kommen. Einschränkend ist dazu zu bemerken, daß nicht jede der im folgenden als "Osteoporose" bezeichneten Skelettveränderungen eine reine Osteoporose im oben (Seite 7 f.) bezeichneten Sinn darstellt, da die Diagnose "Osteoporose" oft noch ohne Berücksichtigung der oben gegebenen Definition gestellt wird. Es wäre aber schon viel an Klarheit der Nomenklatur gewonnen, wenn Knochenveränderungen, die sich eindeutig von der senilen Osteoporose als dem Prototyp der reinen Osteoporose abgrenzen lassen, mit dem allgemeineren Begriff "Osteopathie" belegt würden.

a) Die "klassischen" Einteilungen

Eine in jeder Hinsicht befriedigende Klassifizierung konnte jedoch noch nicht gefunden werden. ALBRIGHT & REIFENSTEIN / 4 / haben mit ihrem Osteoporose-Schema den Versuch einer ätiologisch orientierten Einteilung unternommen, indem sie

I. in der Gruppe der Osteoblasten-Störungen

A. den Mangel an Spannung und Dehnung (Inaktivitätsatrophie),

B. den Östrogen-Mangel (postmenopausische Osteoporose, ovarielle Agenesie) und

C. einen kongenitalen Osteoblastendefekt (Osteogenesis imperfecta) unterschieden,

II. die Störungen der Matrix in

A. den Androgen-Mangel (Eunuchoidismus, senile Osteoporose) und

B. den Protein-Mangel (u.a. beim CUSHING-Syndrom) differenzierten und

III. in einer Gruppe unbekannter Störungen

A. die Akromegalie und

B. die idiopathische Osteoporose

zusammenfaßten.

Während die ALBRIGHTsche Einteilung wohl allzu spekulativ und schematisiert erscheint (u.a. deswegen, weil sie die Bildung der Matrix durch die Osteoblasten ignoriert), verzichtet das später von NORDIN / 117 / aufgestellte Schema fast völlig auf ein pathogenetisches Ordnungsprinzip, indem es unter den diffusen Osteoporosen

lediglich die "primären" ohne sicher bekannte Ursachen den "sekundären" Osteoporosen gegenüberstellt, bei denen bekannte Grundkrankheiten vorliegen, die als Osteoporose-Ursachen in Frage kommen (NORDIN / 118 /). Die Notwendigkeit einer Systematik der Osteoporose-Formen wird von mehreren Autoren betont (FOURMAN / 60 /; HAAS / 69 /; EGER / 52/). Von den verschiedenen Möglichkeiten der Einteilung der Osteoporose-Formen soll hier eine rein deskriptive folgen, solange eine morphologische Systematik noch aussteht, die aber nach EGER / 52 / nur noch eine Frage der Zeit ist.

b) Versuch einer Systematik der Osteoporose-Formen

I. Lokalisierte Osteoporosen

1. Partielle Osteoporose nach Trauma (WILLERT / 167 /)
2. Regionale Osteoporose bei Amputierten (DAVID-CHAUSSEE / 40 /)
3. Inaktivitäts-Osteoporose (DAVID-CHAUSSEE / 40 /)
4. SUDECKsche Atrophie (NORDIN / 117 /)

II. Disseminierte (GOSSMANN / 64 /) oder myelogene Osteopathien (JESSERER / 88 /)

1. Knochenmarks-Carcinose
2. Plasmocytose (JESSERER / 88 /)
3. Makroglobulinämie WALDENSTRÖM (THIEMANN / 154 /)
4. Osteoporose bei (akuten) Leukämien (THOMAS / 155 /)

III. Diffuse Osteopathien (ausgeschlossen die wohl definierten metabolischen Osteopathien: Osteomalacie, ossäre Form des primären Hyperparathyreoidismus und sekundärer Hyperparathyreoidismus)

1. Senile oder Alters-Osteoporose (EGER / 52 /)

2. Präsenile oder Involutions-Osteoporose, befällt Männer und Frauen im Verhältnis 1 : 5; heißt bei Frauen auch postmenopausische oder postklimakterische Osteoporose (JESSERER / 86 /; HIOCO / 79 /)
3. Osteoporose nach Oophorektomie (HAAS / 68 /)
4. Osteoporose bei TURNER-Syndrom (GOSSMANN / 63 /)
5. Osteoporose bei Akromegalie (ALBRIGHT et al./ 3 /)
6. Osteoporose bei Eunuchoidismus (ALBRIGHT & REIFENSTEIN / 4 /) und Hypogonadismus (DENT & FRIEDMAN / 42 /), so auch bei Hämochromatose (THIEMANN / 154 /)
7. Osteopathie bei CUSHING-Syndrom, bei Corticosteroid- und ACTH-Therapie, selten bei malignen Tumoren, die Nebennierenrinden-aktivierende Substanzen bilden (LIDDLE et al. / 102 /)
8. Osteoporose bei Morbus ADDISON (HURXTHAL & MUSULIN / 83 /)
9. Hyperthyreote Osteopathie (DENT & FRIEDMAN / 42 /)
10. Osteopathie bei Hypothyreose (PAHLKE et al. / 122 /)
11. Osteopathie bei Diabetes mellitus (NORDIN & SMITH / 121 /)
12. Renale Osteopathien (SCHMITT-ROHDE / 139 /)
13. Enterale Osteopathien (einschließlich der Osteopathien nach Magenresektion (GOSSMANN / 65 /) und bei Anacidität (NIEPMANN / 116 /)
14. Osteopathie bei chronischen Leberkrankheiten (DENT & Friedman / 42 /)
15. Vitamin-C-Mangel-Osteopathie (THIEMANN / 154 /)

16. Immobilisations- oder Inaktivitäts-Osteoporose, zum Beispiel bei Poliomyelitis, Paraplegien; bei Raumfahrern (BARTELHEIMER / 11 /; WILLERT / 167 /; KROKOWSKI / 94 /)

17. Osteopathie bei konsumierenden Erkrankungen (GOSSMANN / 64 /); die seltene Osteopathie mit Hypercalciämie bei Malignomen ohne Skelett-Metastasen wird nach UEHLINGER / 157 / eindeutig durch einen Hyperparathyreoidismus verursacht.

18. Osteoporose bei Sichelzellanämie (NORDIN / 118 /)

19. Osteoporose bei Sarkoidose (HEUCK / 78, Seite 117 /)

20. Osteoporose bei entzündlichen Knochen- und Gelenkkrankheiten (JESSERER / 88 /)

21. Osteoporose bei Kollagenkrankheiten (DYMLING / 51 /), besonders bei Sklerodermie (THIEMANN / 154 /)

22. Osteoporose, besser: Osteopathie (SCHUSTER et al. / 140 /) nach Heparin-Behandlung (GRIFFITH et al. / 67 /)

23. Osteogenesis imperfecta (FOURMAN / 60 /)

24. Idiopathische oder primäre Osteoporose (NORDIN / 118 /)

25. Davon abgrenzbar: idiopathische juvenile Osteoporose (DENT & FRIEDMAN / 42 /)

26. Protein-Mangel-Osteoporose beim Kind (HAAS / 69 /)

27. Osteoporose bei Arteriosklerose (RAMSEIER / 127 /)

4. Die Notwendigkeit der Differenzierung zwischen einzelnen Osteoporoseformen

Die vorausgegangene Aufzählung macht die Vielzahl der Zustände und Grundkrankheiten deutlich, die zur Entwicklung einer Osteoporose führen können, und erlaubt bereits die Vermutung, daß eine einseitige und für alle Formen einheitliche ätiologische und pathogenetische Vorstellung dem Problem nicht gerecht werden kann. JESSERER / 87 / glaubt, daß eine Osteoporose "auf verschiedene Weise entstehen kann und im Einzelfall wahrscheinlich mehrere Faktoren zusammenwirken müssen". HAAS / 69 / betrachtet die Osteoporose als eine "Reaktionsform des Skeletts auf verschiedenste Noxen". FOURMAN / 60 / meint, es könne keinen Fortschritt (in der Osteoporose-Forschung) geben, solange jede Störung mit verminderter Knochendichte ohne offensichtliche Ursache einfach als Osteoporose bezeichnet werde.

Es ist also zu fordern, daß man in der Osteoporose weniger eine Krankheitseinheit sieht, als vielmehr ein Symptom, etwa vergleichbar der Anämie, dessen weitere ätiologische Differenzierung in jedem Einzelfall die diagnostische Aufgabe ist. Die Differenzierungsmöglichkeiten zwischen den einzelnen Osteoporoseformen, wie sie zum Beispiel von JESSERER / 88 / angegeben werden, sollen nicht im einzelnen aufgeführt werden. Sie entsprechen den früher (Seite 3-4; Seite 8-9) erwähnten Methoden. Hinzu kommen geeignete Untersuchungen, um die genannten vorkommenden Grundkrankheiten nachzuweisen beziehungsweise auszuschließen.

a) Verschiedene Lokalisations- beziehungsweise Entwicklungstypen

Beachtung verdient sicherlich auch die jeweilige Lokalisation der Knochensubstanzverminderung. Je nachdem, ob die

Osteoporose im zeitlichen Querschnitt oder über die ganze Dauer ihrer Entwicklung gesehen wird, spricht man von einer zentralen (oder Stamm-), von einer peripheren oder von einer gemischten Osteoporose (BARNETT und NORDIN / 7 /), beziehungsweise von einer zentrifugal oder einer gleichmäßig fortschreitenden Osteoporose (KROKOWSKI / 95 /), wobei die zentrale Osteoporose des ersten Einteilungsmodus einer leichten oder beginnenden zentrifugal fortschreitenden Osteoporose entsprechen würde.

Untersuchungen mit vergleichender Bestimmung zentraler und peripherer Osteoporose-Parameter haben keine befriedigenden Korrelationen gebracht (KUHLENCORDT et al. / 99 /). BARNETT und NORDIN / 7 / erwägen deshalb, die zentrale und die periphere Osteoporose als zwei unterschiedliche Zustände aufzufassen.

Das Vorkommen einer ausschließlich peripheren Osteoporose erscheint aber nicht mehr ausreichend gesichert, seit gefunden wurde, daß die physiologische Variationsbreite des Mineralsalzgehalts der Extremitätenknochen mit 25 % mehr als doppelt so groß ist wie die der Wirbelsäule (11 %) (KROKOWSKI / 95 /).

Hierfür dürfte die unterschiedliche körperliche Belastung der Extremitäten eine wichtige Rolle spielen (KEANE et al., zit. nach KROKOWSKI / 91 /).

Trotz dieser Schwierigkeiten scheint aber doch der Verteilungsmodus der Osteoporose gewisse Anhaltspunkte für die weitere Aufschlüsselung der Osteoporoseformen zu geben. So wird die senile Osteoporose allgemein als Prototyp der sich synchron an Wirbelsäule und Extremitätenknochen entwickelnden Störung angesehen (NORDIN / 118 /), während die meisten pathologischen Osteoporoseformen im Stammskelett beginnen und erst später das gesamte Skelett befallen, wenn sie nicht vorher zum Stillstand kommen (KROKOWSKI / 95 /).

b) Unterschiede in Krankheitswert, Prognose und Therapie

Diese Differenzierung zwischen den einzelnen Osteoporoseformen ist nicht nur für die Erforschung der Pathogenese der Osteoporose erforderlich, vielmehr bestehen auch erhebliche Unterschiede in Krankheitswert, Prognose und Therapie der verschiedenen Formen. Zum Beispiel hat die senile Osteoporose einen geringeren Krankheitswert und eine bessere Prognose als die präsenile Osteoporose; eine Therapie mit anabolen Hormonen ist bei der letzteren Form wesentlich erfolgreicher als die gleiche Therapie bei der idiopathischen Osteoporose (JESSERER / 88 /) oder der senilen Osteoporose (WELLER / 164 /).

Eine besondere Rolle in der Diskussion hat die Frage gespielt, ob die (senile) Osteoporose überhaupt als pathologisch anzusehen sei. Hierbei handelt es sich jedoch um ein quantitatives Problem und ein solches der Definition, das deshalb mit quantitativen Methoden angegangen werden muß.

Eine solche finden wir zum Beispiel bei KROKOWSKI / 94 /, der den Normalbereich der röntgenologisch gefundenen Knochendichte für jedes Lebensalter ermittelt hat. Unterhalb eines bestimmten absoluten Wertes für die Knochendichte wird eine Osteoporose diagnostiziert. Liegt dieser Wert für das jeweilige Lebensalter und Geschlecht im Normbereich, so handelt es sich um eine physiologische Altersosteoporose. Ist die Knochendichte noch geringer, als dem (fortgeschrittenen) Alter entspricht, so liegt darüber hinaus eine pathologische Osteoporose vor.

Die unterschiedlichen therapeutischen Erfolge bei verschiedenen Osteoporoseformen lassen auch in der Therapie eine Differenzierung notwendig erscheinen.

Selbst in der von der wissenschaftlichen Abteilung einer in der Herstellung von Calcium-Präparaten führenden pharmazeutischen Firma herausgegebenen Monographie wird von MARTIN / 136, Seite 2 / betont: "Nicht jedes decalcifizierte Skelett verlangt nach Calcium."

Auch wird von NORDIN, dem Verfechter der Calcium-Mangel-Hypothese und Befürworter hochdosierter Calcium-Therapie, eine hormonelle Behandlung nicht prinzipiell und für jeden Osteoporose-Fall abgelehnt. (NORDIN und SMITH / 121 /).

Solange eine Zuordnung der einzelnen Osteoporoseformen zu entsprechenden pathogenetischen Vorstellungen, in Übereinstimmung mit dem histologischen Bild und dem Therapieerfolg, noch nicht in größerem Umfang möglich ist, wird auch der Erfolg einer bis dahin durchzuführenden Einheitsbehandlung nicht optimal sein. Manche Autoren benutzen aber die bisher gewonnenen Erkenntnisse bereits, um ihre Therapie je nach der vorliegenden Osteoporoseform zu variieren (NORDIN / 118 /; HIOCO / 79 /; HAAS / 70 /).

5. Die pathogenetischen Hypothesen

Obwohl nach der vorausgegangenen Darstellung eine einheitliche und für jede Osteoporose zutreffende Pathogenese unwahrscheinlich ist, müssen die pathogenetischen Überlegungen doch von den beiden hauptsächlich vertretenen Hypothesen ausgehen: der Knochenmatrix-Hypothese und der Calcium-Mangel-Hypothese.

a) Die Knochenmatrix-Hypothese (ALBRIGHT und REIFENSTEIN / 4 /)

Normalerweise besteht ein hormonales Gleichgewicht zwischen den "N-Hormonen", die den Eiweiß-Aufbau fördern, und den "S-Hormonen", die ihn hemmen. Wird das Gleichgewicht in dem Sinn gestört, daß die "S-Hormone" (im wesentlichen identisch mit den Glucocorticosteroiden) überwiegen, so resultiert eine negative Stickstoff- und Protein-

Bilanz, von der auch die Eiweiß-haltige organische Knochensubstanz betroffen wird. Die vermindert gebildete organische Knochensubstanz wird normal mineralisiert, so daß im Ergebnis ein an Masse reduziertes, an Qualität jedoch normales Knochengewebe vorliegt. Nach dieser "klassischen" Auffassung liegt der Osteoporose weder eine Mineralstoffwechselstörung, noch ein verstärkter Abbau, sondern allein eine hormonal bedingte Vermindung des Anbaus von Knochensubstanz zugrunde.

b) Die Calcium-Mangel-Hypothese (HARRISON et al. / 73 /; NORDIN / 117 /; WHEDON / 166 /) wurde aufgestellt, nachdem neuere Befund mit der bislang gültigen Hypothese der Hypoosteoidose nicht zu vereinbaren waren.

Einmal ließ sich im Tierversuch eine eindeutige Osteoporose durch eine reine Calcium-Mangel-Ernährung erzeugen (CARLSSON und LINDQUIST / 30 /; HARRISON und FRASER / 72 /; JOWSEY und GERSHON-COHEN / 90 /), zum anderen wurden entgegen den ursprünglichen Erwartungen bei menschlichen Osteoporose-Formen Zeichen gesteigerter Knochenresorption bei normaler oder sogar ebenfalls gesteigerter Knochenbildung gefunden. Es lag nahe, die erhöhte Calciumresorption aus dem Knochen als Folge zu geringer alimentärer Calcium-Aufnahme anzusehen, da auf diese Weise eine Senkung des extracellulären Calcium-Spiegels verhindert werden könnte.

Ungeklärt blieb in diesem Zusammenhang die Frage, warum eine (auf pathogenetisch unterschiedliche Weise zustandegekommene) negative Calcium-Bilanz zu einer Osteoporose und nicht, wie dies bei graviden Frauen durch den Calcium-Bedarf des Föten vorkommt, zu einer Osteomalacie führt.

c) Die Osteoporose als Regulationsstörung des Knochen-Stoffwechsels

Für jede der beiden Hypothesen werden zahlreiche weitere Argumente aufgeführt, die nicht alle erwähnt werden können.

Jede der beiden Anschauungen scheint, für sich genommen, genügend fundiert, dennoch kann keine von beiden Alleingültigkeit beanspruchen:

Erstens ist die Osteoporose ein Zustand, der bei zahlreichen physiologischen und pathologischen Prozessen auftreten kann, und keine Krankheit sui generis. Hierzu sei nur an die Zusammenstellung der möglichen Grundkrankheiten bei Osteoporose (S. 14 f.) erinnert. HEANY / 75 / spricht von der Osteoporose als einer multifaktoriellen Krankheit. Es ist nicht möglich, die Osteoporose in allen diesen Fällen auf einen einzigen pathogenetischen Mechanismus zurückzuführen. So kann zum Beispiel bei der Immobilisations-Osteoporose weder ein Überschuß an "S-Hormon" entsprechend der ALBRIGHTschen Hypothese noch ein Calcium-Mangel gemäß der Calcium-Mangel-Hypothese der Osteoporose angenommen werden. Vielmehr ist hier allein das physikalische Faktum einer fehlenden Knochenbeanspruchung ausschlaggebend für die Entwicklung einer Osteoporose (WILLERT / 167 /, ALBRIGHT et al. / 5 /), wahrscheinlich über den Mechanismus der Piezoelektrizität (JOHNSON / 89 /).

In Übereinstimmung mit dieser Vorstellung fand WESTLIN / 165 / eine höhere Knochendichte bei Sportlern verschiedener Disziplinen gegenüber einer untrainierten Kontrollgruppe sowie eine deutlich positive Beziehung zwischen der durchschnittlichen Kraft des Quadriceps und der Knochendichte des distalen Femurendes; die höchste Knochendichte wiesen Gewichtheber auf.

Die Pathogenese des Zustands "Osteoporose" kann also durchaus unterschiedlich sein.

Zweitens sind die beiden Thesen nicht unbedingt so gegensätzlich, wie es zunächst scheinen könnte und auch meistens dargestellt wird: Der Hormonhaushalt und der Calcium-Stoffwechsel stehen in einem noch sehr wenig genau bekannten

Funktionszusammenhang. So wurde erst im Jahre 1962 von COPP et al. ein bisher unbekanntes weiteres die Calcium-Homöostase beeinflussendes Hormon in der Schilddrüse gefunden, das Calcitonin / 36 / oder Thyreocalcitonin (HIRSCH et al. / 80 /) genannt wurde. Auch der Wirkungsmechanismus der übrigen, den Calcium-Stoffwechsel regulierenden Hormone ist keineswegs restlos geklärt. Direkte oder indirekte Wirkungen auf den Calcium-Haushalt üben über eine Beeinflussung der Resorption im Darm, der Reabsorption in der Niere oder der Knochenresorption und -akkretion zumindest folgende Hormone aus: Parathormon, Calcitonin, Thyroxin (WYSS / 170 /), Östrogene, Androgene, somatotropes Hormon, Nebennierenrindenhormone (FISCHER / 57 /; GOSSMANN / 65 /).

Da (drittens) eine ausgeglichene Calcium-Homöostase einerseits also ein hormonales Gleichgewicht, andererseits ein gewisses Minimum an im Darm absorbierten Calcium-Salzen erfordert, besteht somit grundsätzlich die Möglichkeit, daß unter anderem sowohl eine hormonale Regulationsstörung als auch eine Unterschreitung des Calcium-Minimums in der Nahrung eine Osteoporose verursachen kann. Tatsächlich sind beide Möglichkeiten zunächst tierexperimentell erwiesen. Allerdings deutet der fehlende Anstieg der Osteoporose-Häufigkeit in Ländern mit extrem niedriger Calcium-Zufuhr darauf hin, daß eine ungestörte Regulationsfähigkeit wichtiger ist als eine hohe Calcium-Zufuhr. Es liegt deshalb nahe, anzunehmen, daß ein Osteoporose-Patient, bei dem sich anamnestisch eine unterdurchschnittliche Calcium-Aufnahme eruieren läßt, seine Osteoporose erst aufgrund einer zusätzlichen Calcium-Stoffwechsel-Regulationsstörung entwickelt, während zahlreiche andere Individuen bei gleich niedriger Calcium-Aufnahme einen normalen Mineralsalzgehalt im Skelett aufweisen.

Diese Vermutung ist in ähnlicher Weise auch von KROKOWSKI et al. / 97 / geäußert worden.

BHANDARKAR und NORDIN fanden bei Osteoporose-Patienten eine verminderte Fähigkeit, auf Drosselung der Calcium-Zufuhr mit entsprechender Reduktion der Calcium-Ausscheidung im Harn zu reagieren / 19 /. Auch HEANEY / 75 / betrachtet die Osteoporose als Ergebnis einer gestörten Calcium-Homöostase.

Damit läßt sich als allgemeiner gültige Hypothese der Pathogenese der Osteoporose eine "Regulationsstörung des Calcium-Stoffwechsels" formulieren. Da der Calcium-Gehalt des Serums beim Menschen eine der am exaktesten regulierten biologischen Konstanten darstellt, ist der für andere Konstanten, zum Beispiel die Körpertemperatur, gebrauchte Vergleich mit einem technischen Regelkreis (THAUER / 153 /) auch für den Calcium-Spiegel im Serum nicht unangebracht. Andererseits dürfte auch der Mineralisationsgrad (Aschegehalt pro Gewichtseinheit Knochengewebe) nicht allein Folge der Regulation des Calcium-Spiegels im Serum sein, sondern einen eigenen Regulationsmechanismus aufweisen. Nach dem WOLFFschen Transformationsgesetz / 168 / entsprechen Dichte, Dicke und Zahl der Knochenbälkchen an jeder Stelle den auf sie einwirkenden Zug- und Druckbeanspruchungen. Nicht belastete Knochenstrukturen werden abgebaut.

Während die morphologisch leicht erkennbare Anpassung der Knochenstruktur an veränderte Belastungsverhältnisse (Beispiel: knöcherner Durchbau einer Kniegelenksankylose) WOLFF / 168 / schon im vorigen Jahrhundert veranlaßte, das nach ihm benannte Transformationsgesetz zu formulieren, ist es bis heute weit weniger bekannt, welchen gesetzmäßigen Veränderungen der Mineralisationsgrad des Knochens folgt. In diesem Zusammenhang konnten HESS et al. / 77 / zeigen, daß der Mineralgehalt des Knochens verschieden hoch in den einzelnen Abschnitten desselben Knochens ist, und zwar in der Diaphyse von Rattenknochen höher als in der Epi- und Metaphyse. STROBINO & FARR / 149 / fanden eine umgekehrt

proportionale Beziehung zwischen Stickstoff- und Aschegehalt in Abhängigkeit von der funktionellen lokalen Beanspruchung, wobei der höchste Aschegehalt in Diaphysenmitte, der höchste Stickstoffgehalt an den Knochenenden und in der Tuberositas tibiae gemessen wurde.

Ein weiterer Regulationsmechanismus ist durch die Einbeziehung des Knochens in den Eiweißstoffwechsel zu berücksichtigen. Nach UEHLINGER / 156 / wirkt sich das ALBRIGHTsche "Alarmsyndrom" mit seiner erhöhten Glucocorticoid-Ausschüttung über eine starke Erhöhung des Eiweißverschleißes hemmend auf die Knochenneubildung aus.

Erst die Kenntnis der Verflechtung dieser und weiterer Regulationssysteme, die den Calcium-Stoffwechsel und das Skelett beeinflussen, wird einen besseren Überblick über die Einflüsse möglicher Störfaktoren auf die komplizierten Regulationssysteme ermöglichen und eine differenzierte und erfolgreiche Therapie begründen.

Die Konsequenz aus der angesprochenen Vielfalt der Osteoporose-Formen und -Ursachen soll hier insofern gezogen werden, als im folgenden nicht mehr "die" Pathogenese der Osteoporose zur Diskussion stehen kann, sondern in strenger Beschränkung auf die Corticosteroid-Osteopathie (bei jungen weiblichen Ratten) die Frage untersucht werden soll, ob und gegebenenfalls in welchem Ausmaß eine durch exogene Corticosteroid-Zufuhr erzeugte Osteopathie durch prophylaktische Gabe von Mineralien oder Hormonen verhindert werden kann.

II. Die Corticosteroid-Osteopathie

1. Bemerkungen über die klinische Bedeutung der Corticosteroid-Osteopathie; die übrigen Corticosteroidschäden am Skelett

In der überwiegenden Mehrzahl der Fälle handelt es sich bei den "Steroid-Osteoporosen" um iatrogen induzierte, als unerwünschte "Nebenwirkung" therapeutisch indizierter Corticosteroid-Medikation auftretende Veränderungen, während die durch endogene Hypersekretion von Nebennierenrindenhormonen beim eigentlichen CUSHING-Syndrom verursachte "Steroid-Osteoporose" dagegen zahlenmäßig zurücktritt. Ein grundsätzlicher Unterschied zwischen beiden Steroid-Osteopathien ist nicht bekannt. In beiden Fällen ist die Knochensubstanzverminderung jedoch nur eine der möglichen "Nebenwirkungen" der Corticosteroide auf das Skelettsystem. Da die übrigen klinisch vorkommenden Corticosteroid-Nebenwirkungen, soweit sie das Skelett und den Calcium-Stoffwechsel betreffen, möglicherweise Anhaltspunkte für die Pathogenese der "Steroid-Osteoporose" liefern können, seien sie hier kurz zusammengestellt: Neben der

1. "Cortison-Osteoporose" sind dies

2. Spontanfrakturen (CURTISS et al. / 38 /; DEMARTINI et al. / 43 /) mit hyperplastischer Callusbildung (UEHLINGER / 158 /) röntgenologisch MILKMAN-LOOSERschen Umbauzonen entsprechend (UEHLINGER / 158 /);

3. Aseptische Knochennekrosen (DIHLMANN / 44 /), die nach UEHLINGER / 158 / auf pathogenetisch ungeklärte anämische Knocheninfarkte zurückzuführen sind und zum Bild des Pseudo-CHARCOT-Gelenks führen können.

4. Degenerative Veränderungen am Gelenkknorpel, die zu Chondrolysen führen können (JESSERER / 84 /; COPE / 35 /);

5. Provozierung bakterieller Gelenk- und Knochenerkrankungen auch bei systemischer Corticoid-Therapie (DIHLMANN / 44 /);

6. Glucocorticoid-Pseudorheumatismus (SLOCUMB / 143 /);

7. Wachstumsstörungen bei Kindern (BLODGETT et al., zit. DIHLMANN / 44 /): Verzögerung der Knochenreifung und Minderung des Längenwachstums (REISERT / 132 /).

JESSERER / 84 / faßt die Nebenwirkungen einer Glucocorticoid-Behandlung auf das Skelett als "Steroidosteoarthropathie" zusammen. Da diese Symptome im Sinne des oben Gesagten (Seite 10) zwar nicht obligat, aber für die Corticosteroid-osteopathie sehr charakteristisch sind, kann dadurch die These belegt werden, daß es sich bei der "Steroid-Osteoporose" nicht um eine "normale" Osteoporose, sondern vielmehr um eine wenigstens prinzipiell dagegen abgrenzbare Knochenstrukturveränderung handelt. Eine Spontanfraktur ist sogar bei röntgenologisch normalem Knochen möglich (COPE / 35 /), was ebenfalls für eine gewisse Minderwertigkeit des Knochengewebes bei Steroid-Osteopathie spricht. Während die übrigen Komplikationen einer längerdauernden Steroidbehandlung relativ selten auftreten, muß doch der "Steroid-Osteoporose" wegen ihrer Häufigkeit, aber auch wegen der möglichen Konsequenzen, eine erhebliche klinische Bedeutung zugesprochen werden.

2. Auftreten und Häufigkeit der Steroid-Osteopathie

Schon CUSHING / 39 / beschrieb bei sechs von acht Fällen der nach ihm benannten Krankheit das Vorkommen verminderter Knochenfestigkeit und das Auftreten von Kompressionsfrakturen. REISERT / 132 / fand nur bei einem von dreizehn Erwachsenen mit CUSHING-Syndrom keine röntgenologisch erkennbare Osteoporose. Es ist jedoch durchaus denkbar, daß entsprechend den Verhältnissen beim Hyperparathyreoidismus (Seite 9) unter Anwendung quantitativer diagnostischer Methoden auch beim

CUSHING-Syndrom nie ein normaler Knochen gefunden wird, wie dies auch tatsächlich an allen dreißig CUSHING-Patienten von SCHATTENFROH und BUSE / 137 / histologisch nachgewiesen wurde. FOURMAN beschreibt sogar drei gesicherte Fälle von CUSHING-Syndrom, bei denen die Stamm-Osteoporose das einzige Krankheitssymptom war / 60 /.

MOLINATTI et al. / 111 / fanden auch bei den CUSHING-Patienten, die keine Osteoporose aufwiesen, in jedem Fall eine Störung des Calcium-Stoffwechsels in Richtung auf eine negative Bilanz. Dieser Befund ist ein weiteres Argument für die Annahme, daß sich eine "Steroid-Osteoporose" in den Fällen, in denen sie noch nicht nachweisbar ist, mit Sicherheit entwickeln wird, wenn der Hypercorticismus nicht behoben wird.

Pathologische Frakturen als Komplikation einer Steroid-Osteopathie fielen erstmals DEMARTINI et al. / 43 / nach Cortison-Behandlung der rheumatoiden Arthritis und CURTISS et al. / 38 / nach langdauernder ACTH-Therapie auf. Die gleichzeitige Existenz mehrerer Osteoporose-begünstigender Faktoren (Immobilisation, starke Krankheits-Aktivität, Postmenopause) wurde dabei von DEMARTINI et al. besonders herausgestellt.

Die beim CUSHING-Syndrom auftretenden Mineralstoffwechselveränderungen, die zu einer negativen Calcium-, Phosphor- und Stickstoff-Bilanz führen, ließen sich auch unter Cortison- und ACTH-Therapie nachweisen (SPRAGUE / 144 /). Auffallend war dabei, daß sie bei Männern erst unter höheren Cortison-Dosen auftraten als bei Frauen.

Während man die bei CUSHING-Syndrom und unter der früher geübten Therapie mit Cortison und Cortisol auftretenden Osteopathien noch mit der den genuinen Corticosteroiden eigenen mineralocorticoiden Wirkung hätte in Verbindung bringen können, war dies bei den seit 1955 entwickelten synthetischen Corticoiden nicht mehr möglich, da diesen eine fehlende Natrium-retinierende und eine nur minimale Kalium-diuretische Wirkung zuzuschreiben ist / 150, Seite 461 /.

Die Auslösung typischer Steroid-Osteopathien auch durch die neueren synthetischen Corticoide, zum Beispiel Prednison (UEHLINGER / 158 /), weist auf die pathogenetische Bedeutung der Glucocorticoide hin. Eine Korrelation zwischen Schweregrad der Osteoporose und Corticoid-Dosis oder -Applikationsdauer war nicht nachzuweisen (COPE / 35 /; STRESEMANN und KROKOWSKI / 148 /).

Nach letzteren Autoren schien vielmehr eine anfänglich bereits vorhandene Osteoporose durch die Langzeitanwendung von Prednison oder Triamcinolon meistens deutlich verschlimmert zu werden, während bei normalen Ausgangswerten sich im allgemeinen keine Osteoporose entwickelte. Die Häufigkeit der Entstehung einer röntgenologischen Osteoporose unter Corticosteroid-Dauermedikation beziffert KROKOWSKI / 93 / auf etwa 25 %. Dabei ist zu berücksichtigen, daß jede Steroid-Dauerbehandlung mit der minimalen wirksamen Dosierung, möglichst unterhalb der CUSHING-Schwellendosis, auszukommen sucht. Nach KROKOWSKI / 96 / brauchen selbst extreme Corticosteroid-Dosen keine Osteopathie auszulösen.

3. Die Pathogenese der Steroid-Osteopathie

Für die Klärung der Pathogenese der Steroid-Osteopathie gelten grundsätzlich die gleichen Überlegungen wie für die Pathogenese der Osteoporose allgemein (Seite 20 ff.), jedoch dürfen dafür nur solche Untersuchungsergebnisse herangezogen werden, die sich ausdrücklich auf die Corticosteroid-Osteopathie beziehen.

Die Vorstellungen über die Pathogenese speziell der Steroid-Osteopathie sind keineswegs weniger uneinheitlich als die skizzierten Hypothesen (Seite 29 ff.) zur Osteoporose-Entstehung allgemein.

Geht man von den übereinstimmend akzeptierten Fakten aus, so ist zunächst festzustellen, daß es im Verlauf der Entwicklung einer Corticosteroid-Osteopathie (wie bei jeder Osteoporose)

zu einer negativen Knochen-Bilanz kommt, indem "der Abbau bilanzmäßig den Anbau überwiegt" (Seite 7). Die negative Skelett-Bilanz, die bei allen Patienten mit CUSHING-Syndrom (MOLINATTI et al. / 111 /) und bei allen Patienten auftrat, die mit 100 mg Cortison oder mehr behandelt wurden (SPRAGUE / 144 /), findet ihren meßbaren Ausdruck zwangsläufig in einer negativen Stickstoff-, Calcium- und Phosphor-Bilanz in einem der Zusammensetzung des Knochens entsprechenden Mengenverhältnis.

Wird nun bei solchen Untersuchungen eine negative Knochen- oder Calcium-Bilanz gefunden, so ist damit natürlich die Frage der Pathogenese der Osteopathie keineswegs beantwortet. GOSSMANN et al. / 66 / unterscheiden zwischen der äußeren Bilanz, die sich aus Resorption und Ausscheidung ergibt, und der inneren Homöostase, die in der Aufrechterhaltung eines Gleichgewichtszustandes zwischen Knochen und Plasma besteht. Der entscheidende Auffassungsunterschied zwischen den beiden oben (Seite 20 ff.) genannten und auch für die Corticosteroid-Osteopathie in Anspruch genommenen Hypothesen liegt darin, daß ALBRIGHT und seine Schule die negative Calcium-Bilanz als selbstverständliche Folge der Osteoporoseentwicklung betrachten, während die Befürworter der Calcium-Mangel-Hypothese umgekehrt die negative Calcium-Bilanz als die Ursache der Osteoporose ansehen. Im ersten Fall würde also eine Störung der inneren Homöostase, im zweiten eine solche der äußeren Bilanz der Osteopathie beim CUSHING-Syndrom und bei Corticosteroidbehandlung zugrunde liegen.

Welche Befunde können nun die eine oder andere Auffassung stützen, und welche Mechanismen lassen sich zur Erklärung der Osteopathie-Entstehung unter Corticosteroiden auffinden? Betrachtet man die "Steroid-Osteoporose" unter dem Aspekt der Calcium-Stoffwechselstörung, die quantitativ zweifellos im Vordergrund steht, so ergeben sich folgende Möglichkeiten:

Corticosteroide könnten durch

a) erhöhte Calcium-Ausscheidung im Stuhl,

b) erhöhte Calcium-Ausscheidung im Harn zu einer negativen Calcium-Bilanz führen, die ihrerseits zur Aufrechterhaltung eines normalen Serum-Calcium-Spiegels eine erhöhte Mineralmobilisation aus dem Skelett erforderlich machen würde;

Corticosteroide könnten andererseits primär

c) die Knochenresorption steigern oder

d) den Knochenanbau reduzieren oder schließlich

e) nicht nur quantitative, sondern auch qualitative Veränderungen herbeiführen.

a) Erhöhte faecale Calcium-Ausscheidung

Beim Menschen ist die Möglichkeit erhöhter faecaler Calcium-Ausscheidung durch Verminderung der Resorption bekannt (BORLE / 22 /). Wahrscheinlich erfolgt die Resorptionshemmung durch Corticosteroide durch antagonistische Wirkung gegenüber Parathormon und Vitamin D (WEBER / 163 /). Die therapeutisch genutzte Besserung der bei Sarkoidose oder Vitamin-D-Intoxikation auftretenden Hypercalciämie unter Cortisonbehandlung soll jedenfalls teilweise auf eine Hemmung der exzessiven intestinalen Calcium-Resorption zu beziehen sein (ELIEL et al. / 55 /). Als wahrscheinlichen Mechanismus der Corticosteroid-Wirkung auf den Calcium-Stoffwechsel nehmen ELIEL et al. / 55 / eine Vitamin-D-Hemmung und die damit einhergehende Beeinträchtigung der Wirksamkeit des Parathormons an den biochemisch relevanten Angriffspunkten an. In einer klinischen Bilanzstudie von SLATER et al. / 142 / führte die Applikation von Dexamethason bei zwei Patienten zu negativen Calcium-Bilanzen, die sowohl durch faecale als auch durch renale erhöhte Calcium-Ausscheidung bedingt waren. Auch bei Versuchstieren

wurde eine Hemmung der intestinalen Calcium-Resorption durch Nebennierenrindenhormone nachgewiesen (ADAMS & JOWSEY / 1 /). Keine Änderung der intestinalen Calcium-Resorption bei parathyreoidektomierten männlichen Ratten unter Cortisol-Zufuhr innerhalb 24 Stunden fanden dagegen CLARK & SMITH / 33 /. Prednisolon-Behandlung bei Ratten führte ebenfalls nicht zu einer Veränderung der gesamten Calcium-Ausscheidung (CLARK et al. / 32 /).

b) Erhöhte renale Calcium-Ausscheidung

Die oben erwähnte erhöhte renale Calcium-Ausscheidung unter Dexamethason-Behandlung ist die zweite mögliche Ursache einer negativen Calcium-Bilanz (BEGEMANN und KABOTH / 16 /). Diese kommt durch eine Hemmung der tubulären Calcium-Reabsorption zustande, die LAAKE / 100 / als Ausdruck der "antianabolen" Corticosteroid-Wirkung auf die Tubulusepithelien versteht. Unter niedrig dosierter Dauerbehandlung war die resultierende Hypercalciurie bei fast 50 % der Patienten nachweisbar.

c) Primär gesteigerte Knochenresorption

Daß Corticosteroide zu einer erhöhten Knochenresorption führen können, ist mehrfach gezeigt worden. STOREY / 147 / fand eine erhöhte Knochenresorption als charakteristische Reaktion bei Tieren auf Cortison. Ob eine gesteigerte Knochenresorption jedoch als Primärwirkung der Corticosteroide angesehen werden kann, ist umstritten. Da eine Knochen-abbauende Wirkung im wesentlichen dem Parathormon zugeschrieben wird, muß die Frage gestellt werden, ob eine eventuelle Resorptionsvermehrung im Skelett unter Corticosteroiden mit einer sekundären Parathormon-Wirkung zu erklären ist.

Eine primäre, jedenfalls nicht Parathormon-bedingte, Erhöhung der Knochenresorption unter Cortisol-Zufuhr fanden CLARK & SMITH / 33 / bei parathyreoidektomierten Ratten. Andere

Autoren nehmen dagegen eine sekundäre Mineral-Mobilisation aus dem Skelett unter Steroidbehandlung an. HIOCO / 79 / hält sie für das Ergebnis einer durch verminderte intestinale Calcium-Resorption verursachten negativen Calcium-Bilanz, während LAAKE / 100 / in der verminderten renal-tubulären Calcium-Reabsorption und der resultierenden Hypercalciurie die Ursache der steroidbedingten negativen Calcium-Bilanz sieht. Nach STOREY / 147 / wird die erhöhte Knochenresorption unter Corticosteroiden bei Versuchstieren durch eine vermehrte Sekretion von Parathormon vermittelt. In Übereinstimmung damit steht der klinische Befund einer Nebenschilddrüsenhyperplasie (ADAMS & JOWSEY / 1 /) und einer verminderten renalen tubulären Phosphat-Reabsorption (NORDIN & FRASER / 120 /) als Zeichen des sekundären Hyperparathyreoidismus bei CUSHING-Syndrom und unter der Therapie mit Nebennierenrindenhormon.

Dagegen fanden ELIEL et al. / 54 / eine verminderte Ausscheidung von Parathormon im Harn von Patienten unter Corticosteroid-Behandlung. Die Ausscheidung einer regelmäßig in gleichbleibender Dosierung applizierten Parathormonmenge bei einem Patienten mit Hypoparathyreoidismus wurde durch Prednison-Behandlung nicht vermindert (ELIEL et al. / 55 /), woraus die Autoren die Folgerung ableiteten, daß Corticosteroide einerseits die Parathormon-Sekretion vermindern und andererseits dessen biochemische Wirkung auf das Skelett und die Niere antagonisieren. Die therapeutisch günstige Cortison-Wirkung bei Vitamin-D-Intoxikation erklären dieselben Autoren dementsprechend nicht nur mit der Senkung der erhöhten intestinalen Calcium-Resorption, sondern auch mit einer Reduzierung der Knochenresorption (ELIEL et al. / 55 /).

d) Verminderter Knochenanbau

Schon ALBRIGHT & REIFENSTEIN / 4 / hatten die antianabole "S-Hormon"-Wirkung als Ursache der "Steroid-Osteoporose" in

den Mittelpunkt ihrer Betrachtung gestellt. Während die ALBRIGHTsche Konzeption der verminderten Knochenbildung auch für die übrigen Osteoporoseformen (Osteoblasten-, Matrix- und unbekannte Störungen; S. 13 f.) in Anspruch genommen wurde, was zu begründeten Einwänden Anlaß gab, wurde für die "Cortison-Osteoporose" in der Folgezeit eine Fülle von Befunden vorgelegt, welche die Gültigkeit dieser Hypothese zumindest für die "Steroid-Osteoporose" wahrscheinlich machten. Entsprechend der Zusammensetzung des organischen Anteils der Knochensubstanz läßt sich ein verminderter Knochenanbau a) an der Osteoblasten-Aktivität, b) an der Kollagen-Synthese, c) am Aufbau von Mucopolysaccharid-haltiger Grundsubstanz oder d) an der Mineralaufnahme des Knochens messen.

a) So fanden BURRAGE et al. / 28 / eine verminderte osteoblastische Funktion mit spärlichen osteoiden Säumen bei Patienten unter Langzeitbehandlung mit Corticosteroiden.

b) Bei In-vitro-Versuchen von VAES & NICHOLS / 160 / führte Cortisol-Zugabe zu einer Verminderung des Glycin-Einbaus in die organische Substanz von Knochen junger Ratten. Da sich Kollagen zu einem Viertel aus Glycin zusammensetzt, läßt sich daraus eine verminderte Kollagen-Synthese unter Cortisol-Zufuhr ableiten.

c) Die Bildung der organischen Grundsubstanz ist meßbar an dem Einbau eines Schwefel-Radioisotops in die schwefelhaltigen Mucopolysaccharide der Grundsubstanz. Entsprechende Untersuchungen von BOSTRÖM & ODEBLAD / 24 / ergaben einen stark reduzierten ^{35}S-Einbau in den Rippenknorpel unter Cortison. Das gleiche Ergebnis zeigten In-vitro-Versuche von CLARK & UMBREIT / 34 /.

d) Auch am Mineralstoffwechsel ließ sich ein verringerter Knochenanbau eines Calcium-Radioisotops bei Prednisolon-behandelten Ratten nachweisen (CLARK & GEOFFROY / 31 /). Die vielfach gefundene verminderte Bildung von Zellen, kollagenen

Fibrillen und Grundsubstanz sowie die verminderte Mineralaufnahme im Skelett von Corticosteroid-behandelten Individuen ist nicht auf das Knochensystem beschränkt, sondern gilt als Teil der hemmenden Glucocorticosteroidwirkung auf das gesamte Bindegewebe (REED & MC MILLAN / 131 /).

e) Qualitative Veränderungen

Neben den erwähnten quantitativen Differenzen im Aufbau der Knochensubstanz zwischen normalen und Corticosteroid-behandelten Individuen, sei es aufgrund erhöhter Knochenresorption, sei es durch verminderten Knochenaufbau, ist schließlich die Möglichkeit unterschiedlicher chemischer oder struktureller Zusammensetzung zu erwägen.

BERNICK & ERSHOFF / 18 / fanden mit histochemischen Methoden nachweisbare Alterationen der Grundsubstanz sowie mikrostrukturelle Abweichungen in Knochen Cortison-behandelter Ratten. Ähnliche Veränderungen, die verbunden sind mit einer erheblichen Hemmung des Längenwachstums, hatte auch FOLLIS / 59 / bei wachsenden Ratten unter hochdosierter Cortisonbehandlung gesehen. Als typisches, wenn auch nicht obligates Merkmal der Steroid-Osteopathie im Sinne der (Seite 14) erwähnten morphologischen Systematik beschreibt VITTALI / 161 / eine "Zunahme der einkernzelligen Osteoclasie", die zu dem Bild einer sägeschneidenartig gekerbten Bälkchenoberfläche führt. Nach EGER / 52 / ist neben der Hemmung der Osteoblasten-Funktion eine "tiefgreifende Veränderung der Grundsubstanz" typisch für die CUSHING-Osteoporose. Da für die mechanische Stabilität des Knochengewebes die Aufrechterhaltung der komplexen Bindung zwischen Interfibrillarsubstanz, kollagenen Fibrillen und dem Knochenmineral verantwortlich gemacht wird, ist eine Verminderung der Knochenfestigkeit durch Änderung in der Zusammensetzung oder Struktur einer der Komponenten des Knochengewebes durchaus denkbar. So könnte etwa eine fehlerhafte

Zusammensetzung der Grundsubstanz, wie sie bei der Osteogenesis imperfecta gefunden wurde, bei der eine Störung des Hexosamin-Stoffwechsels vorliegt, oder eine Kontinuitätstrennung der kollagenen Fibrillen, wie sie LITTLE et al. / 106 / elektronenoptisch bei Osteoporose nachwiesen, auch dann schon zu abnormer Knochenbrüchigkeit führen, wenn eine röntgenologische Verminderung der Knochendichte (noch) nicht nachweisbar ist. Da dies, wie erwähnt (Seite 27), bei der Steroid-Osteopathie vorkommt (COPE / 35 /), gewinnt die Hypothese der qualitativen Abweichungen der Knochensubstanz beim Hypercorticismus an Wahrscheinlichkeit.

4. Probleme der Beurteilung des Therapieerfolgs der Steroid-Osteopathie

Die Therapie der Cortison-Osteopathie kann hier nur insoweit interessieren, als aus dem Therapieerfolg Rückschlüsse auf die Pathogenese gezogen werden können.

Dazu sind einige Vorbemerkungen nötig:

a) Physiologische Variabilität

Solange gültige Kriterien für die histologische Diagnose "Steroid-Osteopathie" nicht existieren (einerseits werden "verminderte osteoblastische Funktion mit spärlichen osteoiden Säumen und fehlende Neubildungszeichen" (BURRAGE / 28 /), andererseits dagegen "Umbauzeichen, die auf überschießende Demineralisation des Knochens hinweisen und Osteoidsäume mit aktiven Osteoblasten" (HIOCO / 79 /) unter Corticosteroid-Langzeitbehandlung beschrieben), handelt es sich bei der Verlaufsbeurteilung grundsätzlich um dieselben Methoden, wie sie für die Osteoporose-Diagnostik (Seite 3 f.) angegeben wurden, obwohl, wie erwähnt, Anhaltspunkte für eine nicht nur quantitativ, sondern auch qualitativ veränderte Knochensubstanz vorliegen. Vorzüglich geeignet für die Beurteilung des Therapieerfolges erscheinen wegen der wiederholten Anwendbarkeit vor allem die quantitativen röntgenologischen

Methoden (Seite 3 f.). Voraussetzung dazu ist die genaue Kenntnis der physiologischen Variabilität der Knochendichte, denn schon normalerweise ist diese nicht gleichbleibend, sondern abhängig von Lokalisation, Geschlecht und Lebensalter; so zeigen Männer im Durchschnitt eine höhere Knochendichte als Frauen; das Maximum im Verlauf des Lebens ist normalerweise bei Männern im 45., bei Frauen im 38. Lebensjahr erreicht (KROKOWSKI / 92 /).

b) Symptomatische - kausale Behandlung

Therapie kann, nimmt man einmal die therapeutischen Versuche an Tieren hinzu, von zwei unterschiedlichen Impulsen geleitet werden: der ärztliche Impuls zielt auf Beseitigung der Beschwerden, die den Patienten zum Arzt geführt haben, also etwa starke Belastungsschmerzen im Rücken; gelingt es, diese zu beseitigen, so kann man in diesem Sinn von einem Therapieerfolg sprechen. Mit welchen Mitteln dieser Erfolg erreicht wurde, ist von sekundärer Bedeutung. Es ist ohne weiteres klar, daß aus einer so orientierten Behandlung kaum Rückschlüsse auf die Pathogenese der Erkrankung möglich sind. Solche Rückschlüsse sind nur möglich aufgrund wissenschaftlich angelegter und meist nur im Tierexperiment durchführbarer therapeutisbher Versuche einer kausalen Beeinflussung der Steroid-Osteopathie durch prophylaktische oder therapeutische Maßnahmen. Ein Therapieerfolg in diesem letzteren Sinn liegt nur vor, wenn es gelingt, das Auftreten oder Fortschreiten einer "Steroid-Osteoporose" mit quantitativen Untersuchungsmethoden meßbar zu verhindern. Im einfachsten Fall, wenn nämlich die subjektiven Beschwerden unmittelbare Folge der Knochengewebsveränderungen wären, würden sich beide Arten der Therapie decken: die kausale Behandlung würde zu einer Beseitigung der Beschwerden führen. Leider sind jedoch die Verhältnisse bei der Steroid-Osteopathie wie auch bei anderen Osteoporose-Formen komplizierter. So ergab eine vergleichende

Untersuchung des subjektiven und des objektiven Therapieerfolgs, gemessen an der Schmerzintensität beziehungsweise an der relativen Wirbelkörperdichte zwar eine statistisch signifikante Übereinstimmung der subjektiven Reaktion und der Röntgenbefunde (NORDIN & SMITH / 121 /), im einzelnen ist aber die Tatsache bemerkenswert, daß von 29 Patienten, die unter prolongierter Calcium-Therapie eine eindeutige klinische Besserung zeigten, nur rund die Hälfte auch einen verbesserten Röntgenbefund aufwies, während bei den restlichen 50 % je zur Hälfte eine unveränderte beziehungsweise sogar verschlechterte Strahlendichte gefunden wurde. Dies bestätigt die eingeschränkte Verwendbarkeit der subjektiven Beschwerden als Kriterium des Therapieerfolgs. Das wichtigste Symptom, der Belastungsschmerz der Wirbelsäule, tritt eben "erst aufgrund von Veränderungen" ein, "die sich als Folge einer entsprechenden Knochengewebsverminderung an den knöchernen Organen oder in deren Funktionsgefüge entwickeln. Solche Veränderungen sind etwa Wirbelfrakturen oder allmähliche Umformung von Wirbeln zu Keil- oder Fischwirbeln, aber auch sie nicht für sich allein, sondern vor allem in ihren Auswirkungen auf die Wirbelgelenke, die Bandscheiben und auf den Spannungszustand der Rückenmuskulatur" (JESSERER / 87 /).

c) Eingeschränkte Reversibilität

Bei der Beurteilung des Therapieerfolgs muß man sich über die Grenzen jeder Osteoporose-Behandlung im klaren sein. Ohne jeden Zweifel sind Veränderungen, wie sie in Spätstadien vorliegen, also Deckplatteneinbrüche an Wirbelkörpern, Keil- und Fischwirbelbildung, Zusammensinterung von Wirbelkörpern, Verlust an Körpergröße oder ausgeprägte Brustwirbelsäulenkyphosen, nicht mehr vollständig rückbildungsfähig. Allenfalls läßt sich ihr weiteres Fortschreiten aufhalten, unter Umständen mit Unterstützung durch orthopädische Maßnahmen. Eine gewisse Besserung solcher hochgradigen Skelett-

veränderungen ist lediglich durch reparative Vorgänge im Sinne einer "wenn auch nur teilweisen Aufrichtung komprimierter Wirbelkörper" und durch Pseudokallusbildung möglich (DIHLMANN / 44 /), wobei letztere zwar eine Höhenzunahme des betroffenen Wirbels im Röntgenbild erkennen läßt, aber natürlich keinesfalls im Sinne einer Heilung interpretiert werden kann, da es sich um durchaus krankes Gewebe handelt. Während die osteoporotischen Spätstadien somit als irreversibel gelten müssen, sind die Therapieaussichten bei unkomplizierten Osteoporose-Fällen anders zu beurteilen. Durch tierexperimentelle Erzeugung einer Immobilisations-Osteoporose wiesen HAIKE et al. / 71 / nach, daß eine vollständige Wiederherstellung der normalen Knochenfestigkeit (gleichbedeutend mit einer völligen Heilung der Osteoporose) nur bei Jungtieren zu erreichen war, deren Immobilisierung nicht zu lange ausgedehnt worden war. Bei erwachsenen Tieren und bei Jungtieren mit stärkerer Osteoporose war eine restitutio ad integrum nicht mehr möglich. Solange keine gegenteiligen Versuchsergebnisse bekannt sind, besteht kein Grund, für die "Steroid-Osteoporose" in Bezug auf die Reversibilität grundsätzlich andere Verhältnisse anzunehmen.

Der trabekuläre Aufbau des spongiösen Knochens legt die Vermutung nahe, daß eine geringgradigere Osteoporose, die sich lediglich in der verminderten Dicke der Knochenbälkchen manifestiert, einer restitutio ad integrum fähig ist, nicht dagegen eine stärkergradige Osteoporose, bei der auch schon die Zahl der Trabekel reduziert ist. In diesem Fall könnte eine Besserung möglicherweise nur in einer kompensatorischen Hypertrophie der verbleibenden Knochenbälkchen bestehen. Eine solche "hypertrophische Atrophie" (WILLERT / 167 /), röntgenologisch gekennzeichnet durch eine "mehr oder weniger auffallende Vergröberung der Knochenstruktur" (JESSERER / 88 /), wurde in der Tat bei solchen osteoporotischen Prozessen gefunden, bei denen die ätiologisch zugrundeliegende Störung beseitigt werden konnte: bei Immobilisations-Osteoporose nach Remobilisierung (WILLERT / 167 /), bei entzündlichen

Knochenprozessen nach Abklingen derselben und insbesondere bei CUSHING-Osteoporose nach erfolgreicher operativer Behandlung der Nebennierenhyperplasie (JESSERER / 88 /).

Einen besonderen Aspekt gewinnt die Frage der Reversibilität einer "Steroid-Osteoporose" im wachsenden Skelett. Generell bei ausheilenden Osteoporosen im jugendlichen Alter (RATHKE / 129 /), speziell aber auch bei CUSHING-Patienten vor Abschluß des Längenwachstums, erfolgte nach Beseitigung der Krankheitsursache eine völlig normale Knochenneubildung in den Randgebieten der Wirbelkörper, während die ehemals osteoporotischen Wirbelkörper noch nach Jahren durch verminderte Strahlendichte röntgenologisch in ihren Umrissen erkennbar blieben (SCHATTENFROH & BUSE / 137 /).

Nach diesen Beobachtungen scheinen die Möglichkeiten einer therapeutischen Beeinflussung ausgeprägter Steroid-Osteopathien im Sinne einer völligen Reversibilität selbst beim Jugendlichen eingeschränkt zu sein. Eine endgültige Beantwortung könnte diese Frage aber erst durch histologische Untersuchung an Wirbelkörpern von Patienten in verschiedenen Intervallen nach klinischer Heilung einer Corticosteroid-Osteopathie erfahren.

Während nach dem Gesagten eine völlige Wiederherstellung einer stärkergradigen Osteopathie durch keine Art der Therapie mit Sicherheit erwartet werden kann, bietet sich für Forschung und Klinik der Versuch an, eine Steroid-Osteopathie schon im Beginn ihrer Entstehung, also durch prophylaktische Verabreichung der als wirksam angesehenen Substanzen, zu behandeln. Allein auf diese Weise läßt sich auch der Gefahr einer Fehldeutung spontaner Remissionen oder eines schubweisen Verlaufs unter der Therapie begegnen. Quantitative röntgenologische Verlaufsbeobachtungen haben nämlich ergeben, daß eine Abnahme des Mineralsalzgehalts sich in pathologischen Fällen nicht allmählich innerhalb von Jahren, sondern in relativ kurzer Zeit, also

in Form eines oder mehrerer Schübe, entwickelt (KROKOWSKI / 96 /), woran sich eine zweite Phase mit nur geringen Veränderungen bei langsamem Verlauf anschließt. Der Übergang von der ersten in die zweite Phase könnte leicht fälschlicherweise als Therapieeffekt aufgefaßt werden (KROKOWSKI / 96 /).

Auch diese Überlegung führt zu dem nachfolgend dargestellten Versuch,

1. tierexperimentell eine Corticosteroid-Osteopathie zu erzeugen,

2. mittels Untersuchung der Zusammensetzung der Knochensubstanz etwa vorhandene Differenzen zwischen normalen und Corticosteroid-Osteopathie-Tieren nachzuweisen und

3. die Entwicklung einer Steroid-Osteopathie durch prophylaktische Verabreichung von anabolen Hormonen oder Mineralien zu verhindern und etwaige therapeutische Erfolge anhand der eventuell gefundenen chemischen Unterschiede in der Zusammensetzung der Knochensubstanz zu verifizieren.

III. Experimenteller Teil

1. Anlage des Versuchs

a) Vorbehandlung der Versuchstiere

Junge, etwa 190 g schwere weibliche Albino-Ratten vom Stamm BRINGER wurden in mehrere Gruppen aufgeteilt, von denen eine als Kontrolle diente, während den Versuchstieren dreier weiterer Gruppen ein Depot-Corticoid-Präparat intraperitoneal appliziert wurde. Die Tiere je einer dieser Gruppen wurden zusätzlich mit einem Depot-Östrogen-Präparat beziehungsweise mit kontinuierlicher Zufuhr von gelösten Calcium-Salzen im Trinkwasser behandelt.

In einer zweiten Serie wurden die Versuchsbedingungen insofern modifiziert, als die Behandlungsdauer verdoppelt wurde und eine weitere Corticoid-Gruppe Fluorid statt Calcium mit dem Trinkwasser zugeführt bekam.

In einer dritten Serie mit verdreifachter Behandlungsdauer wurde auf eine Kontrollgruppe verzichtet.

b) Gewinnung des Untersuchungsmaterials

Zur Gewinnung des Untersuchungsmaterials wurden die Ratten zu Versuchsende in Äthernarkose getötet, Blut zur Untersuchung auf Calcium-, Phosphor-Konzentration und Gehalt an alkalischer Phosphatase aufgefangen, das Körpergewicht bestimmt, Leber, Nieren und linker Femur unmittelbar anschließend sauber präpariert und sofort deren Frischgewichte bestimmt. Die entnommenen Organe wurden im Trockenschrank mehrere Tage bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und nach Abkühlung das Trockengewicht bestimmt.

In der Serie I wurde das Trockengewicht des Femurs gesondert jeweils in der Diaphyse, im proximalen und im distalen Femurende untersucht.

Anschließend wurde mit einem Äther-Aceton-Gemisch zu gleichen Teilen unter Erwärmen eine Fettextraktion durchgeführt und die gleiche Prozedur zweimal wiederholt. Die Wägung nach erneuter Trocknung und Abkühlung ergab das Gewicht der fettfreien Trockensubstanz. Von den getrockneten und entfetteten Femora wurden nach grober Zerkleinerung Blut-, Mark- und eventuelle Weichteilreste (Sehnenansätze) möglichst vollständig entfernt. Die verbliebenen Knochenteile wurden im Porzellanmörser zu einem feinen Pulver zermahlen, von jedem Femur gesondert.

Nach erneuter Trocknung und Wägung der Ausbeute an pulverisierter fettfreier Knochen-Trockensubstanz nach konstanter Entnahmezeit aus dem Trockenschrank wurde unter Berücksichtigung der laufenden Gewichtszunahme durch Wasseraufnahme aus der Luftfeuchtigkeit in einem standardisierten Wägeverfahren eine bekannte Menge Knochenpulver in einen Nickel- oder Porzellantiegel überführt und bei einer Temperatur von 700 ^{o} C im Muffelofen trocken verascht bis zum Erhalt eines rein weißen Rückstands. Die so gewonnene Knochenasche wurde wiederum gewogen und eine definierte Menge davon mit konzentrierter Salzsäure abgeraucht. Der verbleibende Rückstand wurde unter Erwärmen in 1-normaler HCl aufgenommen und auf ein bekanntes Volumen aufgefüllt. In gleicher Weise wie für die Veraschung wurde in der Serie III außerdem fettfreies trockenes Knochenpulver für die Bestimmung des Hydroxyprolin-Gehalts im Knochen ausgewogen.

Jeder der genannten Untersuchungsschritte wurde für jeden Rattenfemur getrennt durchgeführt.

c) Quantitativ-chemische Analysen

In der auf die oben skizzierte Weise hergestellten Knochenasche-Lösung wurde in den Serien I bis III die Calcium-Konzentration und in den Serien I und III die Phosphor-Konzentration bestimmt.

In der Serie III wurde außerdem der Hydroxyprolin-Gehalt in der fettfreien Trockensubstanz untersucht.

In dem bei der Decapitation aufgefangenen Blut wurde in den Serien I und III die Konzentration von Calcium und Phosphor, in der Serie III zusätzlich die Aktivität der alkalischen Phosphatase gemessen.

Bei den Analysen kamen folgende Bestimmungsmethoden zur Anwendung:

a) für Calcium:

1. komplexometrisch mit Titriplex III (Äthylendiamintetraessigsäure als Natriumsalz) nach FLASCHKA & HOLLASEK / 58 /
2. fotometrisch mit Flammenfotometer EPPENDORF
3. mit Atomabsorptionsflammenfotometer UNICAM

b) für Phosphor:

colorimetrisch mit Semidinhydrochlorid als Reduktionsmittel (DRYER & ROUTH / 46 /)

c) für Hydroxyprolin:

1. colorimetrisch nach NEUMAN & LOGAN / 113 /
2. dieselbe Methode in einer Modifikation von MARTIN & AXELROD / 107 /

2. Durchführung und methodische Probleme

a) Vorbehandlung der Versuchstiere

Die zunächst mit römischen Zahlen bezeichneten Gruppen wurden der besseren Vergleichbarkeit wegen in den drei Serien bei gleicher Behandlung mit übereinstimmenden Buchstaben bezeichnet, wie aus folgender Aufstellung hervorgeht:

I. Serie (4 Gruppen zu je 3 Versuchstieren):

Gruppe I = Kontrolltiere = Gruppe A
Gruppe II = Corticoid- + Östrogen-behandelt = Gruppe C
Gruppe III = Corticoid-behandelt = Gruppe B
Gruppe IV = Corticoid- + Calcium-behandelt = Gruppe D

II. Serie (5 Gruppen zu je 3 Versuchstieren):

Gruppe I = Corticoid- + Calcium-behandelt = Gruppe D
Gruppe II = Corticoid- + Fluorid-behandelt = Gruppe E
Gruppe III = Corticoid-behandelt = Gruppe B
Gruppe IV = Corticoid- + Östrogen-behandelt = Gruppe C
Gruppe V = Kontrolltiere = Gruppe A

III. Serie (3 Gruppen zu je 5 Versuchstieren):

Gruppe I = Corticoid-behandelt = Gruppe B
Gruppe II = Corticoid- + Calcium-behandelt = Gruppe D
Gruppe III = Corticoid- + Östrogen-behandelt = Gruppe C

Die Dosierung bei der Vorbehandlung der verschiedenen Gruppen geht aus Tabelle 2, die Zahl und Intervalle der Injektionen in den drei Serien aus Tabelle 3 hervor.

Tabelle 2:

Behandlungsschema der verschiedenen Versuchsgruppen

Gruppe A	Physiologische Kochsalzlösung
Gruppe B	1 mg Dexamethasonacetat/kg Körpergewicht (Fortecortin-Kristallsuspension)
Gruppe C	wie Gruppe B + 0,5 mg Östradiolmonobenzoat/kg Körpergewicht (Ovocyclin M)
Gruppe D	wie Gruppe B + 120 mg Calcium pro Versuchstier und Tag im Trinkwasser (Calcium-Sandoz forte)
Gruppe E	wie Gruppe B + Fluorid im Trinkwasser

Tabelle 3:

Injektionsschema in den drei Versuchsserien; alle Injektionen intraperitoneal, mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt

Serie	Injektionen am	Versuchsende am
I	4.3; 12.3.	13. 4.
II	18.8; 27.8; 3.9; 17.9.	4. 10.
III	1.11.; 9.11.; 16.11.; 23.11.; 30.11.; 4.12.	18. 12.

b) Behandlung des Untersuchungsmaterials

Die Gewinnung des Untersuchungsmaterials erfolgte in der oben (Seite 42 ff.) beschriebenen Weise.

Da die Genauigkeit der letztlich angestrebten Bestimmung des Mineralsalzgehalts im Knochen von allen unmittelbar vorgeschalteten Untersuchungsschritten abhing, war auf die Einhaltung konstanter Bedingungen größter Wert zu legen, zumal Unterschiede in der Knochenzusammensetzung, wenn sie überhaupt nachweisbar waren, nur innerhalb enger Grenzen erwartet werden konnten.

Im Vordergrund der methodischen Probleme standen die Schwierigkeiten, die durch die Tendenz des Untersuchungsguts zur Wasseraufnahme oder -abgabe entstanden. Zu den betroffenen Arbeitsgängen gehören:

1. die möglichst rasche und gleichmäßige Präparation der zu untersuchenden Organe, am besten in einem klimatisierten kühlen feuchten Raum, in dem auch die Waage für die Bestimmung des Frischgewichts untergebracht sein sollte,

2. der möglichst vollständige Wasserentzug, optimal erreichbar durch Gefriertrocknung, im durchgeführten Versuch durch Trocknung im Trockenschrank bei 105 ^{o}C über mindestens 48 Stunden,

3. die Standardisierung des Wägevorgangs nach Entnahme aus dem Trockenschrank; da die rapide Gewichtszunahme des heißen trockenen Knochens unter Abkühlung und Wasseraufnahme aus der Luft eine reproduzierbare Gewichtsbestimmung ausschließt, nach einigen Minuten aber die Gewichtsanstiegskurve zunehmend flacher wird, konnten durch Wägung genau 10 Minuten nach Entnahme des Knochens aus dem Trockenschrank besser reproduzierbare Werte für das Trockengewicht und das fettfreie Trockengewicht bestimmt werden;

4. die Nachtrocknung nach der Fettextraktion; stichprobenartige Messungen mit und ohne diesen Untersuchungsschritt ergaben ein deutlich niedrigeres Gewicht nach erneuter Trocknung des fettextrahierten Knochens als ohne diese; Wägung wiederum genau nach 10 Minuten;

5. die Nachtrocknung nach Pulverisierung; erwartungsgemäß war die hygroskopische Eigenschaft des trockenen Knochenpulvers gegenüber dem unzerkleinerten Knochen noch verstärkt; Wägung nach zehn-minütiger Abkühlung im geschlossenen Wägeglas;

6. das Abwiegen kleinerer Mengen trockenen fettfreien Knochenpulvers für die nachfolgende Veraschung beziehungsweise chemische Untersuchung nach einem speziellen noch zu nennenden Schema.

Zur Veranschaulichung der Notwendigkeit der oben genannten Untersuchungsschritte können die folgenden Tabellen 4 und 5 dienen:

Tabelle 4:

Gewichtsabnahme des getrockneten und fettextrahierten Femurs durch Nachtrocknung (mindestens 3 Stunden); Wägung nach 10 Minuten Abkühlen; bestimmt an der Serie II

Gruppe Nr.	Tier Nr.	Femurgewicht vor Nachtrocknung (mg)	Femurgewicht nach Nachtrocknung (mg)	eliminierter Wassergehalte (%)
I	1	563,20	540,05	4,1
	2	420,40	402,35	4,3
	3	391,46	375,83	4,0
II	1	424,04	406,72	4,1
	2	440,69	422,46	4,1
	3	442,30	423,35	4,3
III	1	439,48	419,20	4,6
	2	447,87	428,68	4,3
	3	461,20	440,54	4,5
IV	1	420,20	402,05	4,3
	2	428,80	410,71	4,2
	3	416,56	398,37	4,4
V	1	544,69	521,80	4,2
	2	471,58	451,35	4,3
	3	376,00	359,83	4,3
			Mittel:	4,3

Tabelle 5:

Gewichtsverhalten pulverisierter fettfreier Knochen-Trockensubstanz in verschiedenen Intervallen nach Entnahme aus dem Trockenschrank; Beispiel: Serie III, Gruppe II, Nr. 1

Zeit nach Entnahme aus Trockenschrank (Minuten)	Gewicht des Knochenpulvers (mg)	Gewichtsanstieg durch Wasseraufnahme (%)
sofort	158,20	= 100
5	165,60	+ 4,7
10	167,20	+ 5,7
15	167,90	+ 6,1
20	168,40	+ 6,4
vorher	173,75	+ 9,8

Aus Tabelle 5 läßt sich ablesen, welche erheblichen Fehlerquellen durch mangelnde Beachtung der wasseranziehenden Eigenschaft des Knochenpulvers beziehungsweise durch Nichteinhaltung eines konstanten Zeitintervalls zwischen Entnahme aus dem Trockenschrank und Wägung entstehen würden. Die in dem beliebig herausgegriffenen Beispiel der Tabelle 5 gemessenen Werte zeigen auch nach 20 Minuten, also nach sicher vollständig erfolgter Abkühlung des nachgetrockneten Knochenpulvers noch ein Mindergewicht von 3,4 % gegenüber der eingewogenen Menge fettfreier Knochen-Trockensubstanz und belegen, da ja die Ausgangssubstanz bereits zweimal (einmal als unzerkleinerter Knochen, einmal nach Pulverisierung) getrocknet war, eine zwischenzeitlich erfolgte, quantitativ durchaus ins Gewicht fallende Wasseraufnahme der pulverisierten "Trockensubstanz".

Betrachtet man das unmittelbar nach Entnahme aus dem Trockenschrank bestimmte Gewicht als das echte fettfreie

Trockengewicht, so macht der Wassergehalt in der sogenannten fettfreien Trockensubstanz im Beispiel der Tabelle 5 sogar fast 10 % des "echten" fettfreien Trockengewichts aus.

In Abständen von Tagen bis Wochen wiederholte Messungen derselben Probe pulverisierter fettfreier Knochen-Trockensubstanz ergaben in Übereinstimmung mit Tabelle 5 Abweichungen von mehreren Prozent, wobei zwar allgemein eine Tendenz zur Gewichtszunahme zu verzeichnen war, gelegentlich jedoch auch niedrigere Werte als bei der vorhergehenden Wägung bestimmt wurden, die nur durch äußere Einflüsse wie Temperatur und vor allem Luftfeuchtigkeit erklärbar waren.

Andererseits führte jeweils eine erneute Nachtrocknung und Wägung unter den oben angegebenen Bedingungen zu praktisch identischen Werten.

Es bestand somit kein Zweifel daran, daß die gewichtsmäßige Basis weiterer Untersuchungen der fettfreien Knochen-Trockensubstanz allein die Wägung nach ausgiebiger Nachtrocknung im Trockenschrank darstellte.

Bezüglich des zeitlichen Intervalls zwischen Entnahme aus dem Trockenschrank und Wägung gibt ebenfalls die Tabelle 5 Anhaltspunkte für eine praktikable Lösung: eine rapide Gewichtszunahme erfolgt in den ersten 5 Minuten (4,7 %), eine deutlich geringere schon in den folgenden 5 Minuten (1 %), während der spätere Gewichtsanstieg nur noch allmählich erfolgte.

Nachdem als "echtes" fettfreies Trockengewicht zwar eigentlich das unmittelbar nach Entnahme aus dem Trockenschrank bestimmte Gewicht zu gelten hätte, die Wägung zu diesem Zeitpunkt rapider Gewichtszunahme aber mit einer zu großen Fehlerbreite behaftet wäre, hat sich entsprechend den vorstehenden Ausführungen die Gewichtsbestimmung 10 Minuten nach Entnahme aus dem Trockenschrank als bestes Verfahren erwiesen.

Die auf diese Weise ermittelten Werte ergaben, wie Tabelle 4 am Beispiel der Serie II zeigt, einen Nachtrocknungseffekt von durchschnittlich 4,3 % mit relativ geringen interindividuellen Schwankungen ohne signifikante Unterschiede zwischen den verschiedenen Gruppen.

Das oben (Seite 47, Absatz 6) angesprochene Wägeschema ist in Tabelle 6 zusammengefaßt, die zum Abwiegen der Proben fettfreier Trockensubstanz Anwendung fand.

Tabelle 6:

Wägeschema für fettfreie Trockensubstanz

Gewichtsbestimmung	Zeit nach Entnahme aus Trockenschrank (Minuten)	Überführung des Knochenpulvers	Nullpunkt regulieren
"1"=leere Wägeschale	5		ja
"2"=volles Wägeglas	8	aus Wägeglas auf Wägeschale	ja
"3"=Wägeschale mit Knochenpulver	12		
"4"=Wägeglas nach Pulverentnahme	15	von Wägeschale in Tiegel	ja
"5"=geleerte Wägeschale	18		

Berechnung:

"a" = "2" - "4" = aus Wägeglas entnommene Probe

"b" = "3" - "1" = auf Wägeschale gebrachte Probe

"c" = "3" - "5" = Einwage in Tiegel

"d" = anfangs im Wägeglas vorhandenes Knochenpulver

"e" = "b" - "a" = Wasseraufnahme

"f" = "e" : "d" = prozentuale Wasseraufnahme

Das angegebene Wägeschema bietet die Möglichkeit, für jede Probe des Knochenpulvers annähernd zu berechnen, ob und in welchem Umfang bei den für die Gewichtsbestimmung notwendigen Manipulationen eine Wasseraufnahme stattgefunden hat. Die Anwendung des Schemas ergab für Proben fettfreier Trockensubstanz eine Wasseraufnahme von 1 bis 2 %; wurden nicht bestimmte Vorsichtsmaßregeln eingehalten, wie Vermeiden der Berührung der Wägegefäße mit bloßer Hand oder des Anatmens des Knochenpulvers, so war eine noch größere Differenz zwischen "a" und "b" und damit eine noch höhere Wasseraufnahme zu registrieren.

Es ergibt sich hieraus, daß die nächste unmittelbar anschließend abgewogene Probe um etwa den berechneten Faktor zu schwer bestimmt wird, wenn man auf gleichen Trockenheitsgrad bezieht, wobei auf diese Weise natürlich nur Annäherungswerte gemessen werden können.

Genauer wäre bei Abwägung mehrerer Proben fettfreier pulverisierter Trockensubstanz die jedesmal neu erfolgende Nachtrocknung im Trockenschrank, Abkühlung und Wägung nach obengenanntem Schema. Diese Konsequenz ergab sich jedoch erst im Laufe der Messungen und wurde deshalb nicht von Anfang an gezogen.

Das Wägeschema ermöglicht es schließlich, etwaige bei den oft siebenstelligen Zahlen nicht völlig auszuschließende Ablesefehler sofort zu erkennen und gegebenenfalls zu korrigieren.

Die anschließende Veraschung wurde trocken im Muffelofen bei einer Temperatur von 700 ^{0}C durchgeführt. Tabelle 7 zeigt am Beispiel der Serie III, Gruppe I den verbliebenen prozentualen Anteil nach Erhitzen auf verschieden hohe Temperaturen. Während in der ersten Stufe (360 ^{0}C) die noch leicht gräuliche Farbe des Rückstands die unvollständige Veraschung anzeigt, ist der Veraschungsrückstand nach Erhitzung auf 500 ^{0}C schon rein weiß. Dennoch ist bei weiterer Veraschung bis 700 ^{0}C noch ein zusätzlicher Gewichtsverlust von durchschnittlich 2,7 % zu erzielen.

Tabelle 7:

Einfluß der Veraschungstemperatur auf die Gewichtsabnahme fettfreier Knochen-Trockensubstanz; Beispiel: Serie III, Gruppe I

Rückstand (% der eingewogenen Menge):

Temperatur	360 °C	500 °C	700 °C
Femur Nr.			
1	68,44	66,92	64,27
2	68,30	66,83	64,36
3	68,24	66,76	64,29
4	68,74	67,37	64,82
5	67,12	65,28	62,63
Mittelwert	68,17	66,74	64,07

Das Gewicht der Knochenasche wurde ebenfalls nach dem Schema der Tabelle 6 bestimmt. Die dort mit "a" und "b" bezeichneten Differenzen ergaben regelmäßig praktisch identische Werte, so daß das Problem der Adsorption von Luftfeuchtigkeit im Gegensatz zu den Verhältnissen im fettfreien trockenen Knochen in der Knochenasche offenbar keine Rolle spielte. Auch in größeren zeitlichen Abständen durchgeführte Gewichtskontrollen derselben Probe Knochenasche ergaben keine nennenswerten Veränderungen.

Alle Wägungen wurden auf einer Mikrowaage ausgeführt, die eine Ablesung auf 0,01 mg genau erlaubte.

c) Quantitativ-chemische Untersuchungen

Zum quantitativen Nachweis des Gehalts an Calcium, Phosphor und Hydroxyprolin im Knochen mußte dieser in geeigneter Form in Lösung gebracht werden.

Während die Hydroxyprolin-Bestimmung naturgemäß nur im unveraschten Knochen, also am besten in der fettfreien Trockensubstanz, durchgeführt werden konnte, bot sich für die Calcium- und Phosphor-Bestimmung sowohl die fettfreie Trockensubstanz als auch die Knochenasche als Ausgangssubstanz an. Verschiedene Lösungsmethoden für Knochenasche und fettfreie Trockensubstanz wurden deshalb am Beispiel des Femurs des Versuchstiers Nr. 1 der Gruppe II der Serie III parallel angewandt und in den so hergestellten Lösungen die Calcium-Konzentration bestimmt. Die Ergebnisse wurden jeweils auf den Calcium-Gehalt im frischen Knochen umgerechnet und zum Vergleich in Tabelle 8 zusammengefaßt; dargestellt sind jeweils die Mittelwerte mehrerer Einzelbestimmungen. Daraus ergeben sich nur geringfügige Unterschiede für die Werte, denen die Bestimmungen in den verschiedenen Aschelösungen zugrunde lag, während die aus den Extrakten der fettfreien Trockensubstanz bestimmten Calcium-Werte etwas höher und inkonstanter waren.

Da wegen der oben ausführlicher dargestellten Problematik der Wasseradsorption des getrockneten fettfreien Knochenpulvers die Knochenasche zweifellos das konstantere Bezugssystem ist, wurde den Bestimmungen aus Asche-Lösungen der Vorzug gegeben, und zwar wurden in den Serien I und III die Ascheproben mit konzentrierter Salzsäure über dem Bunsenbrenner vollständig abgeraucht, wobei durch pausenloses Schwenken ein Spritzen und damit ein Verlust von Substanz vermieden werden mußte; der Rückstand wurde sodann in 5 ml 1-normaler HCl aufgenommen, quantitativ in einen Meßkolben überführt und auf das vorgesehene Volumen aufgefüllt. In der Serie II wurde die Knochenasche unter Erwärmen in konzentrierter HCl gelöst ohne anschließendes Abrauchen und Wiederauflösung in verdünnter Salzsäure.

In den so gewonnenen Knochenasche-Lösungen wurden die oben

erwähnten Bestimmungsmethoden für Calcium und Phosphor angewandt. Die Hydroxyprolin-Messungen wurden, wie erwähnt, in der fettfreien Trockensubstanz vorgenommen.

Tabelle 8:

Der Einfluß des Ausgangsmaterials (Asche oder fettfreie Trockensubstanz) und der Lösungsmethode auf den für Frischsubstanz berechneten Calcium-Gehalt im Knochen, bestimmt am Beispiel der Serie III, Gruppe II, Versuchstier Nr. 1

Ausgangsmaterial	Lösungsmittel	errechneter Calcium-Gehalt (g/100 g)
(a) Asche	5 ml 25 prozentige HCl	15,8
(b) Asche	Wie (a), aber anschließend mit NaOH neutralisiert	15,9
(c) Asche	Wie (a), dann abgeraucht, Rückstand in 5 ml 1-n HCl aufgenommen	15,6
(d) Fettfreie Trockensubstanz	In 3-n HCl gekocht	16,2
(e) Fettfreie Trockensubstanz	Mit 10 ml 10 prozentiger Trichloressigsäure extrahiert	17,3

Zur Anwendbarkeit der verschiedenen Bestimmungsmethoden unter den gegebenen Bedingungen sollten die nachfolgenden Bemerkungen gemacht werden.

1. Die Calcium-Bestimmung

Das Prinzip der allgemein bekannten flammenfotometrischen

Calcium-Bestimmung mit dem Flammenfotometer "Eppendorf" (Firma Netheler & Hinz) besteht in der Intensitätsmessung des bei dem Zerstäubungs- und Verdampfungsvorgang in der Flamme entstehenden Lichts einer für das zu messende Element charakteristischen Wellenlänge.

Ein universaleres Anwendungsspektrum bietet das ähnlich arbeitende Atomabsorptionsflammenfotometer (Firma UNICAM), bei dem die Möglichkeit besteht, bei variabler Wellenlänge zwischen Emissions- und Transmissionsmessung zu wählen. Beide Methoden bieten den Vorteil, eine theoretisch unbegrenzte Anzahl entsprechend vorbereiteter Lösungen nacheinander auf ihren Gehalt an einzelnen Elementen, speziell Calcium, überprüfen zu können. Ihr Nachteil liegt in der Abhängigkeit von einer Reihe teilweise schwer beeinflußbarer technischer Faktoren; so führen Spannungsschwankungen oder kleine Abweichungen der prozentualen Zusammensetzung des verwendeten Gasgemischs besonders beim Atomabsorptionsflammenfotometer häufiger zu Änderungen des Nullpunkts und der Standardwerte und heben dadurch die Vorteile der Serienbestimmung teilweise wieder auf.
Die zeitlich etwas aufwendigere Methode der Calcium-Bestimmung mit Titriplex III "Merck" beruht auf der Fähigkeit der Äthylendiamintetraessigsäure zur Komplexbildung mit zweiwertigen Kationen. Aus dem in Puffertabletten enthaltenen Zink-Titriplex verdrängt Calcium, das zuvor als Oxalat gefällt wird, eine äquivalente Menge Zink, das mit dem zugegebenen Indikator ein rotes Salz bildet. Durch Titration des Zinks mit Titriplex III bis zum Farbumschlag kann die Menge des vorhandenen Calciums bestimmt werden. Diese Methode bietet den Vorteil, daß bei den verwendeten Knochenaschekonzentrationen das Calcium unmittelbar in den bereiteten Lösungen bestimmt werden kann, während für die flammenfotometrische Bestimmung ein zusätzlicher Verdünnungsschritt zwischengeschaltet werden muß, damit der

für die Messung optimale Konzentrationsbereich erreicht wird. Da jeder zusätzliche Verdünnungsschritt die Fehlerbreite des Meßergebnisses erhöht, erschien die Titriplex-Methode als das für die vorliegende Untersuchung geeignetste Calcium-Bestimmungsverfahren.

Unabhängig von der gewählten Methode stellt jede exakte Calcium-Bestimmung besondere Anforderungen an die Calcium-Freiheit der verwendeten Geräte. Sämtliche zunächst auf die übliche Art gereinigten Geräte mußten deshalb mit Aqua dest. und zuletzt mit Aqua bidest. sorgfältig nachgespült werden.

Stichprobenartig durchgeführte Analysen ergaben eine Konzentration von 3,6 bis 4,3 mg Calcium pro 100 ml Leitungswasser. Damit war schon nahezu die Calcium-Konzentration der zu analysierenden Knochenasche-Lösungen erreicht. Es läßt sich daraus überschlagsmäßig leicht errechnen, daß (bei sonst völlig Calcium-freiem Gerät) allein der Rückstand von einem Tropfen Leitungswasser in dem Gefäß, in dem die Titration durchgeführt wird, genügt, um einen weit über dem tolerierbaren Bereich liegenden Meßfehler von 2 bis 3 % zu verursachen.

2. Die Phosphor-Bestimmung

Zur Bestimmung des Phosphor-Gehalts in Lösungen wird allgemein den colorimetrischen Verfahren der Vorzug gegeben. Diese beruhen fast ausschließlich auf der mengenmäßig dem Phosphor-Gehalt proportionalen Bildung von Phosphomolybdänsäure und deren Reduktion zu einem blauen Farbstoff, der wahrscheinlich aus verschiedenen Molybdänoxiden besteht. Die zahlreichen Modifikationen des Verfahrens werden durch die Suche nach einem optimalen Reduktionsmittel bestimmt, von denen mindestens zehn verschiedene in der Literatur angegeben sind. Erst in neuerer Zeit wurde das Semidin (N-phenyl-p-phenylendiamin) als für diesen Zweck geeignetes

Reduktionsmittel genannt (DRYER & ROUTH / 46 /). Die Substanz ist als Hydrochlorid rein erhältlich, und die maximale Farbentwicklung wird früher erreicht als bei anderen Reduktionsmitteln.

Bei der Prüfung auf ihre Anwendbarkeit für die Phosphor-Bestimmung in der hergestellten Knochenasche-Lösung zeigte sich, daß die Methode unter bestimmten Voraussetzungen als hervorragend geeignet bezeichnet werden kann.

Die Ergebnisse der methodischen Voruntersuchungen können wie folgt zusammengefaßt werden:

1. Die auf die Bestimmung des anorganischen Phosphor-Gehalts im Serum abgestellte Methode wurde insofern modifiziert, als in den vorliegenden reinen Knochenasche-Lösungen naturgemäß sich eine Eiweißfällung erübrigte und die angegebenen Mengenverhältnisse von Analysenprobe und Reagenzien sinngemäß verändert wurden.

2. Die Extinktionsmessungen für eine Eichkurve, ausgehend von 0,1, 0,2, 0,3 ...0,9, 1,0 ml Standard-Phosphor-Lösung, ergaben eine exakte Proportionalität in dem Bereich von 0 bis 10 mg/100 ml zwischen Phosphor-Gehalt der Analysenprobe und gemessener Extinktion. Die letztere lag für 1,0 ml Standard-Phosphor-Lösung (entsprechend 10 mg Phosphor/100 ml Lösung) bei etwa 0,725 bei einer Wellenlänge von 366 nm (siehe Abb. 1).

3. Ebenso resultierte bei Verwendung von 0,1 ml, 0,2 ml, 0,3 ml usw. einer beliebigen Knochenasche-Lösung eine Extinktionskurve, die erst für Werte, welche bei mehr als 0,6 ml verwendeter Knochenasche-Lösung gemessen wurden, gekrümmt verlief und unterhalb davon einer durch den Nullpunkt gehenden Geraden entsprach (siehe Abb. 1).

4. Die Zugabe von 0,1 ml Standard-Phosphor-Lösung zu den zuletzt erwähnten 0,1 ml, 0,2 ml usw. derselben

Knochenasche-Lösung ergibt eine um die Extinktion von 0,1 ml Standard-Phosphor-Lösung nach oben verschobene Gerade; somit wurde die zugegebene Phosphor-Menge quantitativ wiedergefunden (siehe Abb. 1).

5. Das Semidinhydrochlorid ließ sich in der Natriumbisulfit-Lösung nur unter Verwendung von mehr als den von den Autoren angegebenen 0,5 ml Äthanol lösen.

   Trotzdem noch ungelöst gebliebene Semidin-Spuren ließen eine Filtrierung der Lösung ratsam erscheinen, wie auch von den Autoren erwähnt wird.

   Die Extinktionswerte für die Eichkurve (siehe oben, Abs. 2) lagen exakter auf der Geraden, nachdem die Semidin-Lösung filtriert war.

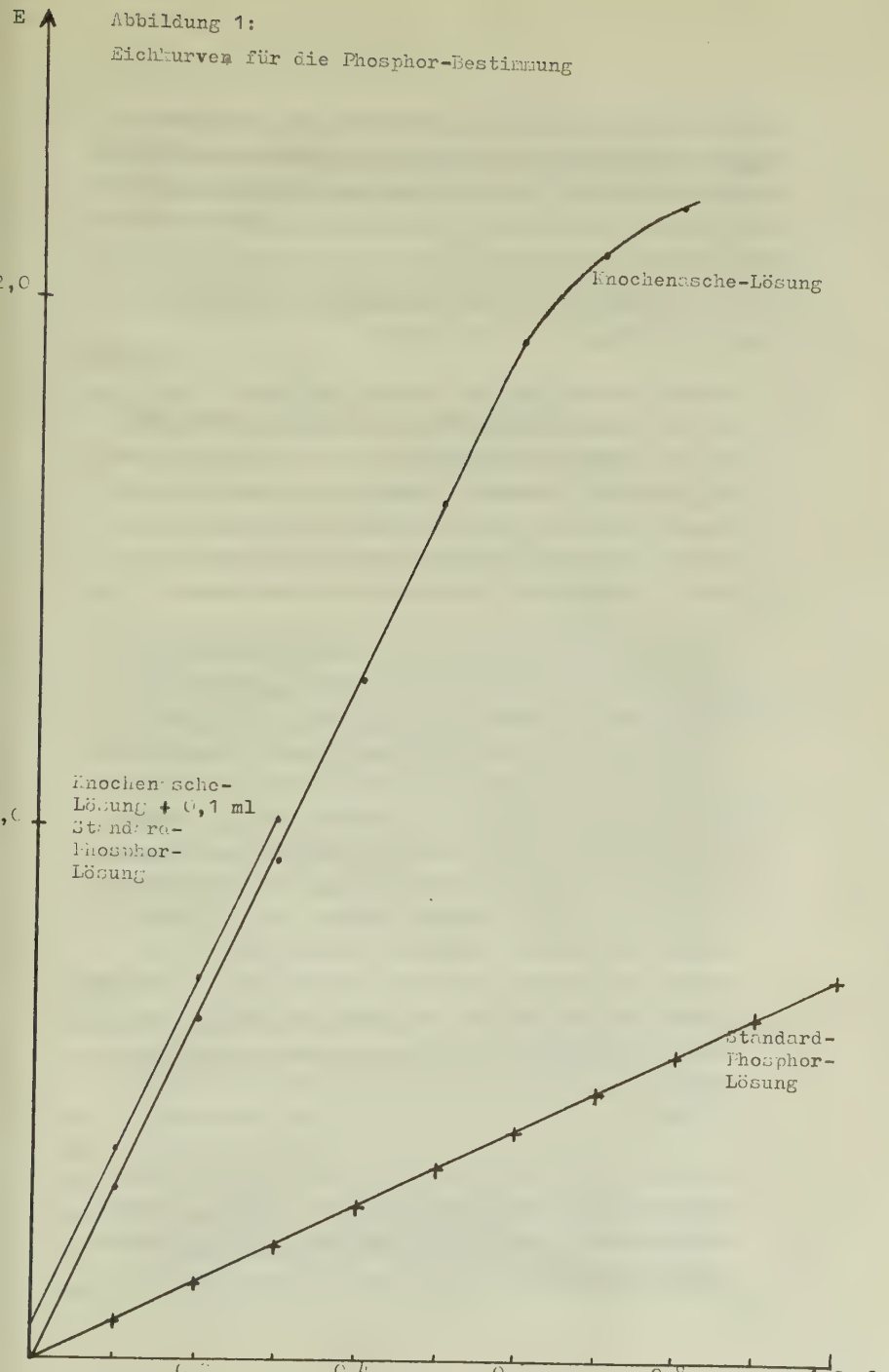
6. Anfängliche Schwierigkeiten, reproduzierbare Ergebnisse der Phosphor-Bestimmung zu erhalten, ließen sich darauf zurückführen, daß die Extinktion unter den vorliegenden Bedingungen nicht, wie bei der Methode angegeben, über einen Zeitraum von 1 1/2 Stunden konstant blieb; die Schwierigkeiten ließen sich erst ausschalten, als zwischen Zugabe von Molybdat, Semidin-Lösung und Extinktions-Messung konstante Zeiten von jeweils genau 10 Minuten eingehalten wurden. Die Anzahl der pro Ansatz möglichen Bestimmungen (außer einem Blindwert und zwei Standardwerten) war damit auf 6 begrenzt.

3. Die Hydroxyprolin-Bestimmung

Das Prinzip der Hydroxyprolin-Bestimmung nach NEUMAN & LOGAN / 113 / besteht in der Hydroxyprolin-Oxidation mit Peroxid in Gegenwart von Natronlauge und Kupfersulfat, in der Entfernung von überschüssigem Peroxid durch Erhitzen und der anschließenden Farbentwicklung mit Paradimethylaminobenzaldehyd in saurer Lösung. Wegen der bekanntermaßen bei dieser Methode auftretenden Schwierigkeit, eine reproduzierbare lineare Standardkurve zu erhalten, wurde für die endgültigen

Abbildung 1:

Eichkurven für die Phosphor-Bestimmung



Messungen ein von MARTIN & AXELROD / 107 / angegebenes modifiziertes Verfahren bevorzugt, bei dem die Entfernung des überschüssigen Peroxids nicht durch Erhitzen, sondern durch Reaktion mit Eisensulfat in verdünnter Schwefelsäure-Lösung erreicht wird.

Bei der Durchführung der Hydroxyprolin-Bestimmungen ergaben sich folgende Besonderheiten:

1. Extinktionsmessungen der für die Gewinnung einer Standardkurve benötigten Hydroxyprolin-Standards ergaben die von MARTIN & AXELROD beschriebene lineare Beziehung zwischen gemessener Extinktion und Hydroxyprolin-Gehalt der Lösung in den unteren Konzentrationsbereichen und einen flacheren, nicht mehr linearen Kurvenanstieg von 20 µg/ml an aufwärts.

2. Die mit denselben Hydroxyprolin-Standard-Lösungen in Intervallen von einigen Tagen geprüfte Reproduzierbarkeit der gemessenen Extinktionswerte war unbefriedigend; und zwar zeigten sich unabhängig von der verwendeten Methode (NEUMAN & LOGAN / 113 / oder MARTIN & AXELROD / 107 /) innerhalb weniger Tage in unregelmäßiger Weise geringer werdende Extinktionswerte, obwohl alle Lösungen vorschriftsmäßig in geschlossenen PVC-Flaschen kühl aufbewahrt wurden. Dieser Fehler konnte erst dadurch eliminiert werden, daß die Hydroxyprolin-Standard-Lösungen jeweils frisch angesetzt wurden. Daß es sich bei der erwähnten Schwierigkeit nicht um fehlerhafte Bestimmungen handeln konnte, zeigten Doppelbestimmungen, deren Genauigkeit bei $\pm$ 1 % lag.

3. Wegen der hohen zu erwartenden Hydroxyprolin-Konzentration in den Hydrolysaten der untersuchten Knochensubstanz hätte die Beschränkung auf den linear verlaufenden Bereich der Standardkurve bedeutet, daß die

einzelnen abzuwiegenden Knochenpulverproben in der Größenordnung von Zehntel Milligramm gelegen hätten. Da derartig geringe Mengen jedoch nicht mit ausreichender Genauigkeit abzuwiegen waren, wurden Knochenpulver-Mengen in der Größenordnung von einigen Milligramm abgewogen und die Ergebnisse anhand der Standardkurve graphisch bestimmt.

3. Ergebnisse

a) tabellarische Darstellung der Ergebnisse

Die auf die vorstehend (Seite 42 ff.) beschriebene Weise gewonnenen Ergebnisse werden nachfolgend tabellarisch zusammengefaßt. Dabei erscheint es sinnvoll, die Zusammensetzung des Knochens sowohl auf Frischsubstanz als auch auf Trockensubstanz, fettfreie Trockensubstanz und Knochenasche zu berechnen, und zwar aus zwei Gründen: einmal beziehen sich die in der Literatur mitgeteilten Daten der Knochenzusammensetzung jeweils auf den einen oder anderen der genannten Ausgangszustände (beziehungsweise Angaben darüber fehlen überhaupt); da jeder Wert für jedes Versuchstier individuell ermittelt wurde, besteht zum anderen die Möglichkeit, daß geringfügige Unterschiede in der Zusammensetzung beispielsweise der fettfreien Trockensubstanz sich bei Umrechnung auf Frischsubstanz als signifikant erweisen.

1. Serie I

Die aus Raumgründen abgekürzt bezeichneten Rubriken der nachfolgenden Tabellen enthalten folgende Meßwerte:

KG = Körpergewicht der Versuchstiere (VT) zu Versuchsende
SCa = Calcium-Gehalt im Serum (mg / 100 ml)
SP = Phosphorgehalt im Serum (mg / 100 ml)
FG = Frischgewicht des Femur (g)
FG = Frischgewicht des Femur (g/100 g KG)
TSdis = Trockensubstanzgehalt des distalen Femur (g/100 g FG)

TSpro = Trockensubstanzgehalt des proximalen Femur (% FG)
TSDia = Trockensubstanzgehalt der Femur-Diaphyse (% FG)
TG = Trockengewicht des Femur (% KG)
ffrTG = fettfreies Trockengewicht des Femur (% KG)

Die nachfolgenden Angaben betreffen ausschließlich die prozentuale Zusammensetzung der Knochensubstanz:

H_2O = Wassergehalt (% = g/100 g)
TS = Trockensubstanz (%)
Fett = Fettgehalt (%)
ffrTS = fettfreie Trockensubstanz (%)
ffror = fettfreie organische Substanz (%)
org = organische Substanz (%)
Min = Mineralgehalt (%)
Ca = Calcium-Gehalt (%)
P = Phosphor-Gehalt (%)

Schließlich wurde das Gewichts-Verhältnis Calcium-Phosphor-Gehalt berechnet:

Q = Ca (%) / P (%)

Tabelle 9:

Körpergewichte, Calcium- und Phosphor-Gehalt im Serum der Versuchstiere (VT) der Gruppen (Gr.) A, B, C, D der Serie I

Gr.	VT	KG	SCa	SP
	Nr.	g	mg/100 ml	
A	1	273	11,4	-
	2	225	10,8	4,12
	3	240	10,3	-
	MW	246	10,83	4,12
B	1	262	14,04	4,02
	2	270	12,9	-
	3	246	14,08	-
	MW	259	13,67	4,02
C	1	235	11,4	3,91
	2	262	12,2	-
	3	225	11,6	-
	MW	241	11,73	3,91
D	1	250	13,4	-
	2	235	13,7	-
	3	240	13,5	-
	MW	242	13,53	-

Tabelle 10:

Frischgewicht, Trockengewicht und fettfreies Trockengewicht im Verhältnis zum Körpergewicht und Trockensubstanzgehalt der einzelnen Femuranteile

Gr.	VT	FG	FG	TSdis	TSpro	TSDia	TG	ffrTG
	Nr.	mg	% KG	% FG	% FG	% FG	% KG	% KG
A	1	739,5	0,271	65,07	70,89	74,44	0,188	0,186
	2	648,1	0,288	63,59	66,96	70,42	0,191	0,189
	3	615,0	0,256	59,95	68,29	71,93	0,170	0,169
	MW	667,5	0,272	62,87	68,71	72,26	0,183	0,181
B	1	662,9	0,253	64,78	66,73	74,10	0,173	0,171
	2	793,6	0,294	65,27	72,39	75,36	0,208	0,206
	3	503,0	0,204	63,64	66,34	73,82	0,139	0,138
	MW	653,2	0,250	64,56	68,49	74,43	0,173	0,172
C	1	686,4	0,292	65,46	73,39	71,91	0,204	0,202
	2	705,7	0,269	64,56	68,46	75,43	0,185	0,182
	3	652,3	0,290	63,88	69,79	74,34	0,199	-
	MW	681,5	0,284	64,63	70,55	73,89	0,196	0,192
D	1	501,0	0,200	61,32	69,49	74,00	0,137	0,136
	2	478,8	0,204	63,90	70,17	74,25	0,143	0,142
	3	643,7	0,268	62,95	68,02	75,77	0,185	0,182
	MW	541,2	0,224	62,72	69,23	74,67	0,155	0,153

Tabelle 11:

Zusammensetzung der Knochensubstanz des Femur (Frischgewicht)

Gr.	VT	H_2O	TS	Fett	ffrTS	ffror	org	Min	Ca	P
	Nr.	% = g/100 g FS								
A	1	30,51	69,49	0,649	68,84	24,45	25,10	44,39	-	-
	2	33,51	66,49	0,725	65,76	24,42	25,15	41,35	15,2	7,33
	3	33,50	66,50	0,644	65,86	23,92	24,57	41,93	15,5	7,45
	MW	32,51	67,49	0,673	66,82	24,26	24,94	42,56	15,4	7,39
B	1	31,56	68,44	0,860	67,58	25,98	26,84	41,60	15,4	7,36
	2	29,28	70,72	0,718	70,00	26,92	27,64	43,08	15,9	7,66
	3	31,79	68,21	0,616	67,59	25,16	25,78	42,43	15,7	7,56
	MW	30,88	69,12	0,731	68,39	26,02	26,75	42,37	15,7	7,53
C	1	30,03	69,97	0,772	69,20	26,27	27,04	42,93	15,8	7,57
	2	31,30	68,70	0,964	67,74	26,90	27,86	40,84	14,8	7,15
	3	31,29	68,71	0,917	67,79	26,20	27,12	41,59	15,5	7,39
	MW	30,87	69,13	0,884	68,24	26,46	27,34	41,79	15,4	7,37
D	1	31,42	68,58	0,758	67,82	24,68	25,44	43,14	16,0	7,71
	2	29,87	70,13	0,480	69,65	24,33	24,81	45,31	16,8	8,07
	3	31,10	68,90	1,010	67,89	24,90	25,91	42,99	15,9	7,63
	MW	30,80	69,20	0,749	68,45	24,64	25,39	43,81	16,2	7,80

Tabelle 12:

Zusammensetzung der Trockensubstanz des Knochens (Femur) der Versuchstiere der Serie I

Gr.	VT	Min	org	Fett	ffrTS	Ca	P
	Nr.	% = g/100 g		TS			
A	1	63,88	36,12	0,934	99,06	-	-
	2	62,18	37,82	1,090	98,91	22,9	11,02
	3	63,06	36,94	0,968	99,03	23,3	11,20
	MW	63,04	36,96	0,997	99,00	23,1	11,11
B	1	60,78	39,22	1,256	98,74	22,5	10,76
	2	60,91	39,09	1,016	98,98	22,5	10,83
	3	62,21	37,79	0,904	99,09	23,0	11,09
	MW	61,30	38,70	1,058	98,94	22,7	10,89
C	1	61,36	38,64	1,103	98,90	22,5	10,82
	2	59,45	40,55	1,403	98,60	21,5	10,40
	3	60,52	39,48	1,350	98,65	22,5	10,75
	MW	60,44	39,56	1,285	98,72	22,2	10,66
D	1	62,89	37,11	1,106	98,89	23,3	11,24
	2	64,62	35,38	0,684	99,32	23,9	11,51
	3	62,39	37,61	1,466	98,53	23,1	11,07
	MW	63,30	36,70	1,085	98,91	23,4	11,27

Tabelle 13:

Zusammensetzung der fettfreien Knochen-Trockensubstanz, Serie I

Tabelle 14:

Zusammensetzung der Mineralsubstanz des Knochens

Gr.	VT Nr.	Min % = g/100 g	ffror	Ca	P	Ca	P	Q
				ffrTS		% = g/100 g Min		
A	1	64,49	35,51	-	-	-	-	-
	2	62,87	37,13	23,1	11,14	36,8	17,72	2,08
	3	63,68	36,32	23,5	11,31	36,9	17,76	2,08
	MW	63,68	36,32	23,3	11,22	36,8	17,74	2,08
B	1	61,56	38,44	22,8	10,90	37,0	17,70	2,09
	2	61,54	38,46	22,7	10,94	36,9	17,78	2,07
	3	62,78	37,22	23,2	11,19	36,9	17,82	2,07
	MW	61,96	38,04	22,9	11,01	36,9	17,77	2,08
C	1	62,04	37,96	22,8	10,94	36,7	17,64	2,08
	2	60,29	39,71	21,8	10,55	36,2	17,50	2,07
	3	61,35	38,65	22,8	10,89	37,2	17,76	2,09
	MW	61,23	38,77	22,5	10,79	36,7	17,63	2,08
D	1	63,60	36,40	23,5	11,36	37,0	17,87	2,07
	2	65,06	34,94	24,1	11,59	37,0	17,81	2,08
	3	63,32	36,68	23,4	11,24	37,0	17,75	2,08
	MW	63,99	36,01	23,7	11,40	37,0	17,81	2,08

2. Serie II

Die Ergebnisse der II. Behandlungsserie (doppelte Vorbehandlungsdauer der Versuchstie; zusätzlich Fluorid-behandelte Gruppe) werden in den folgenden Tabellen wiedergegeben, die im wesentlichen die den Tabellen 9 bis 14 entsprechenden Parameter enthalten.

Tabelle 15:

Körpergewichte, Gewichtszunahmen (KG+) in den letzten vier Wochen vor Versuchsende der Tiere der Gruppen A, B, C, D, E der Serie II

Gr.	VT	KG	KG+
	Nr.	g	g
A	1	280	55
	2	265	53
	3	229	22
	MW	258	43
B	1	245	34
	2	225	18
	3	225	12
	MW	232	21
C	1	240	20
	2	250	15
	3	230	15
	MW	240	17
D	1	293	48
	2	235	40
	3	210	20
	MW	246	36
E	1	219	15
	2	224	10
	3	234	16
	MW	226	14

Tabelle 16:

Frischgewicht, Trockengewicht und fettfreies Trockengewicht der Femora im Verhältnis zum Körpergewicht; Trockensubstanz, Fett und fettfreie Trockensubstanz in der Tibia bei den Tieren der Serie II

Gr.	VT	FG	FG	TG	ffrTG	TST	FettT	ffTST
	Nr.	mg	%KG	%KG	%KG	%FG	%FG	%FG
A	1	932	0,333	0,212	0,203	65,30	1,94	63,37
	2	764	0,288	0,192	0,183	70,52	3,28	67,24
	3	666	0,291	0,182	0,174	64,58	2,76	61,82
	MW	787	0,304	0,195	0,187	66,80	2,66	64,14
B	1	703	0,288	0,196	0,188	70,32	2,94	67,38
	2	725	0,322	0,216	0,207	68,67	3,00	65,67
	3	750	0,333	0,222	0,211	70,16	3,63	66,53
	MW	726	0,314	0,211	0,202	69,72	3,19	66,53
C	1	727	0,303	0,200	0,191	69,91	3,22	66,69
	2	758	0,303	0,198	0,186	68,67	1,91	66,76
	3	695	0,302	0,201	0,194	66,89	4,07	62,82
	MW	727	0,303	0,200	0,190	68,49	3,07	65,42
D	1	915	0,312	0,204	0,197	67,11	3,01	64,10
	2	669	0,285	0,188	0,181	69,26	3,11	66,15
	3	659	0,314	0,214	0,206	70,80	2,80	68,01
	MW	748	0,304	0,202	0,195	69,06	2,97	66,09
E	1	700	0,320	0,210	0,197	68,05	3,60	64,46
	2	749	0,334	0,212	0,204	70,65	3,79	66,86
	3	694	0,297	0,206	0,197	68,22	3,31	64,90
	MW	714	0,317	0,209	0,199	68,97	3,57	65,41

Tabelle 17:

Zusammensetzung der Knochensubstanz des Femur (Frischgewicht) der Versuchstiere der Serie II

Gr.	VT	H_2O	TS	Fett	ffrTS	ffror	org	Min	Ca
	Nr.	% = g/100 g FS							
A	1	36,37	63,63	2,49	61,13	19,20	21,69	41,94	15,3
	2	33,38	66,62	3,07	63,55	21,19	24,26	42,36	15,5
	3	37,54	62,46	2,48	59,98	20,59	23,07	39,39	14,5
	MW	35,76	64,24	2,68	61,55	20,33	23,01	41,23	15,1
B	1	31,58	68,42	2,94	65,49	21,94	24,88	43,54	16,4
	2	32,97	67,03	2,89	64,15	21,42	24,31	42,72	16,3
	3	33,47	66,53	3,18	63,36	21,22	24,40	42,13	15,9
	MW	32,67	67,33	3,00	64,33	21,53	24,53	42,80	16,2
C	1	33,84	66,16	3,01	63,15	21,76	24,77	41,39	15,0
	2	34,70	65,30	3,89	61,42	20,32	24,21	41,09	15,1
	3	33,38	66,62	2,55	64,07	20,57	23,12	43,50	15,9
	MW	33,97	66,03	3,15	62,88	20,88	24,03	41,99	15,3
D	1	34,64	65,36	2,30	63,05	21,54	23,84	41,52	15,4
	2	33,93	66,07	2,62	63,45	21,79	24,41	41,66	14,7
	3	31,87	68,13	2,45	65,68	21,65	24,10	44,03	16,1
	MW	33,48	66,52	2,46	64,06	21,66	24,12	42,40	15,4
E	1	34,43	65,57	4,01	61,56	20,25	24,26	41,31	15,5
	2	36,58	63,42	2,42	61,00	20,35	22,77	40,65	15,2
	3	30,69	69,31	2,81	66,50	22,28	25,09	44,22	16,4
	MW	33,90	66,10	3,08	63,02	20,96	24,04	42,06	15,7

Tabelle 18:

Zusammensetzung der Trockensubstanz des Femurs der Versuchstiere der Serie II

Gr.	VT	Min	org	Fett	ffrTS	Ca
	Nr.	% = g/100 g		TS		
A	1	65,92	34,08	3,92	96,08	24,0
	2	63,58	36,42	4,61	95,39	23,3
	3	63,06	36,94	3,97	96,03	23,3
	MW	64,19	35,81	4,17	95,83	23,5
B	1	63,65	36,35	4,29	95,71	23,9
	2	63,74	36,26	4,31	95,69	24,3
	3	63,32	36,68	4,77	95,23	23,9
	MW	63,57	36,43	4,46	95,54	24,0
C	1	62,56	37,44	4,55	95,45	22,7
	2	62,93	37,07	5,95	94,05	23,2
	3	65,29	34,71	3,82	96,18	23,9
	MW	63,59	36,41	4,77	95,23	23,3
D	1	63,53	36,47	3,53	96,47	23,6
	2	63,06	36,94	3,96	96,04	22,3
	3	64,63	35,37	3,60	96,40	23,7
	MW	63,74	36,26	3,70	96,30	23,2
E	1	63,01	36,99	6,11	93,89	23,6
	2	64,10	35,90	3,81	96,19	24,0
	3	63,81	36,19	4,05	95,95	23,6
	MW	63,64	36,36	4,66	95,34	23,7

Tabelle 19:

Zusammensetzung der fettfreien Trockensubstanz der Femora der Serie II

Gr.	VT Nr.	Min % = g/100 ffrTS	ffror	Ca
A	1	68,61	31,39	25,0
	2	66,65	33,35	24,4
	3	65,67	34,33	24,2
	MW	66,98	33,02	24,5
B	1	66,50	33,50	25,0
	2	66,61	33,39	25,4
	3	66,49	33,51	25,1
	MW	66,53	33,47	25,2
C	1	65,54	34,46	23,8
	2	66,91	33,09	24,6
	3	67,88	32,12	24,8
	MW	66,78	33,22	24,4
D	1	65,85	34,15	24,5
	2	65,66	34,34	23,2
	3	67,04	32,96	24,5
	MW	66,18	33,82	24,1
E	1	67,11	32,89	25,2
	2	66,64	33,36	25,0
	3	66,50	33,50	24,6
	MW	66,75	33,25	24,9

Tabelle 20:

Calciumgehalt der Mineralsubstanz der Femora der Serie II

Ca % = g/100 g Min
36,4
36,6
36,9
36,6
37,6
38,2
37,8
37,9
36,3
36,8
36,6
36,6
37,2
35,4
36,6
36,4
37,5
37,5
37,0
37,3

3. Serie III

Die Ergebnisse nach Verlängerung der Vorbehandlung der Versuchstiere auf das Dreifache gegenüber der Serie I gehen aus den Tabellen 21 bis 26 hervor (zusätzliche Bestimmung der alkalischen Phosphatase im Serum (AP) und des Hydroxyprolins (OHP) beziehungsweise des Kollagens (Koll) im Knochen).

Tabelle 21:

Körpergewicht, Calcium, Phosphor und alkalische Phosphatase im Serum; Frischgewicht, Trockengewicht und fettfreies Trockengewicht im Femur im Verhältnis zum Körpergewicht

Gr.	VT	KG	SCa	SP	AP	FG	FG	TG	ffrTG
	Nr.	g	mg/100	ml	KAE	mg	% KG	% KG	% KG
B	1	132	11,2	7,28	25,8	274	0,208	0,143	0,138
	2	142	10,5	7,28	25,8	354	0,249	0,171	0,168
	3	144	10,9	-	33,0	378	0,262	0,184	0,181
	4	162	10,1	8,45	31,8	418	0,258	0,182	0,182
	5	174	10,1	8,45	49,8	476	0,274	0,185	0,177
	MW	151	10,6	7,86	33,2	380	0,250	0,173	0,169
C	1	142	10,0	-	22,8	362	0,255	0,172	0,168
	2	144	10,1	-	17,4	294	0,204	0,139	0,137
	3	145	9,9	6,26	16,8	356	0,245	0,171	0,170
	4	165	10,1	-	7,8	439	0,266	0,181	0,178
	5	176	10,2	-	8,4	495	0,281	0,193	0,191
	MW	154	10,1	6,26	14,6	389	0,250	0,171	0,169
D	1	142	10,8	5,85	18,0	306	0,215	0,150	0,149
	2	146	11,0	5,85	21,0	317	0,217	0,152	0,146
	3	148	11,1	5,46	17,4	328	0,222	0,152	0,144
	4	160	10,9	5,98	13,8	328	0,205	0,143	0,136
	5	186	10,6	5,98	17,4	466	0,250	0,170	0,164
	MW	156	10,9	5,76	17,5	349	0,222	0,153	0,148

Abbildung 2:

Die Zusammensetzung der Knochensubstanz der Femora (Gruppen-Mittelwerte) in den Serien I, II und III; die Höhe der Säulen gibt den prozentualen Anteil des Femurgewichts am Körpergewicht an

1 = Wassergehalt
2 = Fett
3 = fettfreie organische Substanz
4 bis 6 = Mineralsubstanz
5 = Phosphat
6 = Calcium

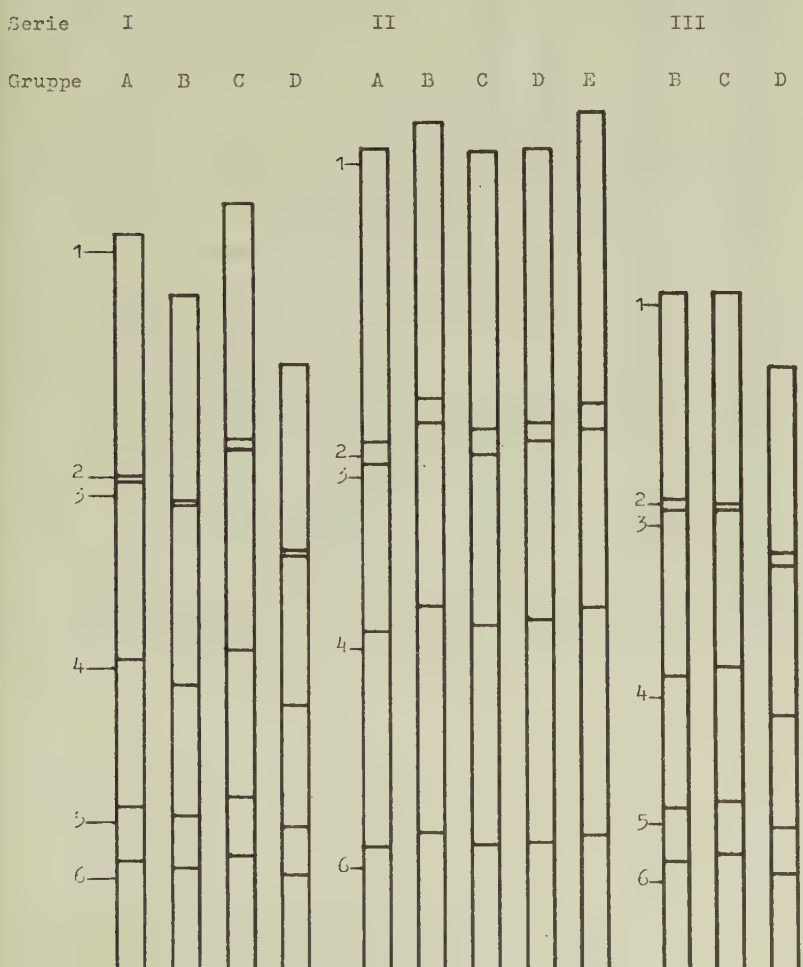


Tabelle 22:

Zusammensetzung der Knochensubstanz der Femora (Frischgewicht) der Versuchsserie III

Gr.	VT	H_2O	TS	Fett	ffrTS	ffror	org	Koll	Min	Ca	P
	Nr.	% = g/100 g		FS							
B	1	31,24	68,76	3,05	65,71	23,48	26,53	13,2	42,23	15,8	7,69
	2	31,21	68,79	1,40	67,39	24,02	25,42	13,6	43,37	16,3	7,72
	3	29,99	70,01	0,99	69,02	24,65	25,64	13,7	44,37	16,4	7,90
	4	29,31	70,69	0,39	70,30	24,73	25,12	15,0	45,57	16,4	7,75
	5	32,21	67,79	3,74	64,05	23,94	27,68	14,2	40,11	15,2	7,34
	MW	30,79	69,21	1,91	67,29	24,16	26,08	13,9	43,13	16,0	7,68
C	1	32,31	67,69	2,16	65,53	22,82	24,98	13,8	42,71	15,8	7,60
	2	31,58	68,42	1,46	66,96	21,00	22,46	13,3	45,96	17,1	8,04
	3	30,27	69,73	0,32	69,41	24,20	24,52	15,9	45,21	17,3	8,09
	4	31,80	68,20	1,46	66,74	23,49	24,95	15,5	43,25	16,6	7,78
	5	31,49	68,51	0,59	67,92	22,25	22,84	14,6	45,67	16,8	8,17
	MW	31,49	68,51	1,20	67,31	22,75	23,95	14,6	44,56	16,7	7,94
D	1	30,32	69,68	0,84	68,85	27,34	28,18	15,8	41,51	15,6	7,43
	2	30,21	69,79	3,20	66,59	24,51	27,71	15,9	42,08	15,8	7,57
	3	31,64	68,36	4,25	64,11	23,18	27,43	14,6	40,93	15,4	7,41
	4	30,99	69,61	4,10	65,51	24,10	28,20	14,7	41,41	15,8	7,50
	5	32,11	67,89	2,87	65,03	22,60	25,47	14,4	42,43	15,9	7,68
	MW	30,93	69,07	3,05	66,02	24,35	27,40	15,1	41,67	15,7	7,52

Tabelle 23:

Zusammensetzung der Trockensubstanz der Femora der Versuchstiere der Serie III

Gr.	VT Nr.	Min % = g/100 g TS	org	Koll	Fett	ffrTS	Ca	P
B	1	61,42	38,58	19,1	4,44	95,56	23,0	11,2
	2	63,05	36,95	19,7	2,04	97,96	23,8	11,2
	3	63,38	36,62	19,6	1,41	98,59	23,5	11,3
	4	64,46	35,54	21,2	0,55	99,45	23,1	11,0
	5	59,17	40,83	21,0	5,52	94,48	22,4	10,8
	MW	62,30	37,70	20,1	2,79	97,21	23,2	11,1
C	1	63,09	36,91	20,3	3,19	96,81	23,3	11,2
	2	67,18	32,82	19,5	2,13	97,87	24,9	11,8
	3	64,83	35,17	22,8	0,46	99,54	24,8	11,6
	4	63,42	36,58	22,7	2,14	97,86	24,3	11,4
	5	66,66	33,34	21,4	0,86	99,14	24,5	11,9
	MW	65,04	34,96	21,3	1,76	98,24	24,4	11,6
D	1	59,57	40,43	22,7	1,20	98,80	22,4	10,7
	2	60,31	39,69	22,8	4,58	95,42	22,6	10,9
	3	59,87	40,13	21,4	6,22	93,78	22,5	10,8
	4	59,49	40,51	21,1	5,89	94,11	22,7	10,8
	5	62,48	37,52	21,3	4,23	95,77	23,4	11,3
	MW	60,35	39,65	21,9	4,42	95,58	22,7	10,9

Tabelle 24:

Zusammensetzung der fettfreien Trockensubstanz der Femora der Serie III und Verhältnis Kollagen/fettfreier organischer Substanz

Gr.	VT Nr.	Min % = g/100 g	ffror	OHP ffrTS	Koll	Ca	P	Q Koll/ffror %
B	1	64,27	35,73	1,82	20,0	24,1	11,7	56,0
	2	64,36	35,64	1,83	20,1	24,3	11,5	56,4
	3	64,29	35,71	1,81	19,9	23,8	11,4	55,7
	4	64,82	35,18	1,94	21,4	23,3	11,0	60,9
	5	62,63	37,37	2,02	22,2	23,7	11,5	59,5
	MW	64,07	35,93	1,88	20,7	23,8	11,4	57,7
C	1	65,17	34,83	1,91	21,0	24,0	11,6	60,3
	2	68,64	31,36	1,81	19,9	25,5	12,0	63,5
	3	65,13	34,87	2,08	22,9	24,9	11,7	65,6
	4	64,81	35,19	2,11	23,2	24,8	11,7	66,0
	5	67,24	32,76	1,96	21,6	24,7	12,0	66,0
	MW	66,20	33,80	1,97	21,7	24,8	11,8	64,3
D	1	60,29	39,71	2,09	23,0	22,7	10,8	57,9
	2	63,20	36,80	2,17	23,9	23,7	11,4	65,0
	3	63,84	36,16	2,07	22,8	24,0	11,6	63,1
	4	63,21	36,79	2,04	22,5	24,1	11,4	61,2
	5	65,24	34,76	2,02	22,2	24,5	11,8	63,9
	MW	63,16	36,84	2,08	22,9	23,8	11,4	62,2

Tabelle 25:

Zusammensetzung der Mineralsubstanz der Femora der Tiere der Serie III

Gr.	VT Nr.	Ca % = g/100 g Min	P	Q
B	1	37,5	18,2	2,06
	2	37,7	17,8	2,12
	3	37,0	17,8	2,08
	4	35,9	17,0	2,11
	5	37,8	18,3	2,06
	MW	37,2	17,8	2,09
C	1	36,9	17,8	2,07
	2	37,1	17,5	2,12
	3	38,2	17,9	2,13
	4	38,3	18,0	2,13
	5	36,8	17,9	2,06
	MW	37,5	17,8	2,10
D	1	37,6	17,9	2,10
	2	37,5	18,0	2,08
	3	37,6	18,1	2,08
	4	38,1	18,1	2,10
	5	37,5	18,1	2,07
	MW	37,7	18,0	2,09

b) Statistische Auswertung - signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen

Das in den Tabellen 9 - 25 dargestellte Zahlenmaterial wurde anhand des T-Tests auf signifikante Differenzen zwischen den verschieden vorbehandelten Gruppen in den drei Serien statistisch untersucht.

Gesicherte Unterschiede wurden angenommen, wenn p gleich oder kleiner als 0,01 war.

In den nachstehenden Tabellen werden die Mittelwerte und deren Standardabweichungen nur für die Parameter angegeben, bei denen sich signifikante Unterschiede ergaben.

Tabelle 26:

Mittelwerte und Standardabweichungen der signifikant verschiedenen Ergebnisse der Gruppen der Serie I (Abkürzungen siehe Seite 61 ff.)

	SCa	ffror	org
	mg/100 ml	% FS	% FS
A	10,83 ± 0,32	24,26 ± 0,17	24,94 ± 0,18
B	13,67 ± 0,39	(26,02 ± 0,51)	(26,75 ± 0,54)
C	11,73 ± 0,24	26,46 ± 0,22	27,34 ± 0,26
D	13,53 ± 0,01	24,64 ± 0,17	25,39 ± 0,32
Signifikanz	A - B A - D C - D	A - C D - C	A - C D - C

Tabelle 27:

Mittelwerte und Standardabweichungen der signifikant verschiedenen Ergebnisse der Gruppen der Serie II

Gr.	Ca
	% Min
A	36,6 ± 0,1
B	37,9 ± 0,2
C	36,6 ± 0,1
D	(36,4 ± 0,5)
E	(37,3 ± 0,2)
Signifikanz	A - B
	C - B

Tabelle 28:

Mittelwerte und Standardabweichungen der signifikant verschiedenen Ergebnisse der Gruppen der Serie III

Gr.	SCa	SP	AP	Koll
	mg/100 ml	mg/100 ml	KAE	g/100 g ffrTS
B	(10,6 ± 0,2)	7,86 ± 0,34	33,2 ± 4,4	20,7 ± 0,5
C	10,1 ± 0,1	6,26 ± 0	14,6 ± 2,9	(21,7 ± 0,6)
D	10,9 ± 0,1	5,82 ± 0,10	17,5 ± 1,5	22,9 ± 0,3
Signifikanz	C - D	D - B D - C	C - B D - B	B - D

Gr.	org	org	Min
	g/100 g FS	g/100 g TS	g/100 g FS
B	(26,08 ± 0,46)	(37,70 ± 0,92)	(43,13 ± 0,93)
C	23,98 ± 0,54	34,96 ± 0,83	44,56 ± 0,66
D	27,40 ± 0,50	39,65 ± 0,55	41,67 ± 0,26
Signifikanz	C - D	C - D	D - C

Gr.	Min	Ca	Ca	Ca
	g/100 g TS	g/100 g FS	g/100 g TS	%ffrTS
B	(62,30 ± 0,92)	(16,0 ± 0,2)	(23,2 ± 0,2)	23,8 ± 0,2
C	65,04 ± 0,83	16,7 ± 0,3	24,4 ± 0,3	24,8 ± 0,2
D	60,34 ± 0,55	15,7 ± 0,1	22,7 ± 0,2	(23,8 ± 0,3)
Signifikanz	D - C	D - C	D - C	B - C

Gr.	P	P	Q Koll/ffror
	% FS	% TS	%
B	(7,68 ± 0,09)	(11,1 ± 0,1)	57,7 ± 1,0
C	7,94 ± 0,11	11,6 ± 0,1	64,3 ± 1,1
D	7,52 ± 0,05	10,9 ± 0,1	(62,2 ± 1,2)
Signifikanz	- D - C	D - C	B - C

Faßt man die in den Tabellen 26 bis 28 dargestellten Ergebnisse nochmals in anderer Weise zusammen, so hat die unterschiedliche Vorbehandlung im durchgeführten Tierexperiment auf die Ratten der einzelnen Gruppen folgende signifikante Wirkungen ausgeübt:

Gruppe B (Dexamethason-Gruppe) weist gegenüber Gruppe A (Kontrollgruppe) lediglich einen erhöhten Serum-Calcium-Spiegel auf (Serie I); in Serie II ist der Calcium-Gehalt der Knochenasche der Corticoid-behandelten Ratten gegenüber den Kontrolltieren erhöht.

Gruppe C (Corticoid-Östrogen-Gruppe) unterscheidet sich von der Gruppe A durch einen höheren Anteil organischer und fettfreier organischer Substanz, berechnet auf die Knochen-Frischsubstanz (Serie I).

Im Vergleich mit Gruppe B fällt ein verminderter Calcium-Gehalt in der Mineralsubstanz des Femurs auf (Serie II); in der letzten Serie dagegen (längere Behandlungsdauer, jüngere Versuchstiere) lag der Calcium-Gehalt in der fettfreien Trockensubstanz der C-Ratten über dem der Gruppe B; der Quotient aus dem Kollagen-Gehalt und dem Gehalt an fettfreier organischer Substanz in der fettfreien Trockensubstanz des Femurs war höher als bei den nur Dexamethason-behandelten Tieren, und die Aktivität der alkalischen Phosphatase im Serum erreichte nur halb so hohe Werte wie in der Gruppe B.

Gruppe D (Corticoid-Calcium-Gruppe) bietet gegenüber der Kontrollgruppe A in der Serie I einen höheren Serum-Calcium-Spiegel.

Von Gruppe B unterscheidet sich Gruppe D durch einen niedrigeren Phosphat-Gehalt im Serum, eine geringere Aktivität der alkalischen Serum-Phosphatase und einen höheren Kollagen-Gehalt in der fettfreien Knochen-Trockensubstanz (Serie III).

Die meisten Unterschiede finden sich, wenn man die Dexamethason- und Calcium-behandelten Ratten mit den Dexamethason- und Östrogen-behandelten Versuchstieren vergleicht: in der Serie I liegt der Serum-Calcium-Spiegel höher, die organische und die fettfreie organische Substanz im Femur sind gegenüber der Gruppe C reduziert; in der Serie III ergab sich ebenfalls eine erhöhte Calcium-Konzentration im Serum, dagegen war der Gehalt an organischer Substanz im Femur sowohl in der Frischsubstanz als auch in der Trockensubstanz bei den D-Tieren höher als in Gruppe C; niedriger als in Gruppe C wurden die folgenden Meßwerte gefunden: die Phosphat-Konzentration im Serum, der Mineral-Gehalt, berechnet auf die Frisch- und Trockensubstanz des Femurs, sowie der Calcium- und Phosphor-Gehalt, jeweils in der Frisch- und Trockensubstanz des Femurs.

Gruppe E (Corticoid-Fluor-Gruppe) schließlich unterscheidet sich in keinem der gemessenen Parameter signifikant von einer der anderen Gruppen.

IV. Diskussion

1. Körpergewicht beziehungsweise Gewichtszunahme

Das Körpergewicht der Ratten der Serie I lag bei Versuchsende zwischen 225 und 273 g, das der etwas älteren Versuchstiere der Serie II zwischen 210 und 293 g, während die jüngeren Ratten der Serie I 132 bis 186 g wogen.

Damit entsprach das durchschnittliche Gewicht der Jungtiere nach HOPPE-SEYLER/THIERFELDER / 81 / einem Alter von ca. zwei Monaten, das der Serie I von vier Monaten und das der Serie II von fünf Monaten. Tatsächlich waren jedoch die Ratten der Serie III mindestens drei Monate alt: sie hatten während der sechswöchigen Versuchsdauer praktisch nicht an Gewicht zugenommen.

Obwohl statistisch gesicherte Unterschiede innerhalb der einzelnen Serien nicht nachgewiesen werden konnten, können die Tendenzen der Körpergewichtszunahme in folgender Weise charakterisiert werden: die Tiere der (in Serie I und II vorhandenen) Gruppe A (= Kontrolltiere) nahmen gut an Gewicht zu, besonders bei längerer Versuchsdauer (Serie II).

Bei kurzzeitiger Behandlung (Serie I) wurden sie übertroffen durch Gruppe B (= Corticoid-Tiere), die jedoch in Serie II und III (vier- beziehungsweise sechsmalige Depot-Injektionen) wenig oder gar nicht an Gewicht zunahm.

In Serie II waren die Anfangs-Körpergewichte so unterschiedlich, daß die Gewichtszunahme der einzelnen Versuchstiere von der ersten Wägung nach Versuchsbeginn bis Versuchsende zusätzlich bestimmt wurde. Auch auf diese Weise lagen die Kontrolltiere in der Körpergewichtszunahme an erster Stelle, gefolgt von den Corticoid-behandelten Ratten in der Reihenfolge B (Corticoid-Gruppe), C (Corticoid- + Östrogen-Gruppe) und zuletzt E (Corticoid- + Fluor-Gruppe).

In Serie III nahm, wie schon erwähnt, in allen drei Gruppen - B, C und D (Corticoid- + Calcium-Gruppe) - das Körpergewicht nicht zu.

Diese Ergebnisse stehen im Einklang mit Befunden aus der Literatur, die unter Corticoid- und Östrogen-Behandlung erhoben worden sind: so fanden AHO et al. / 2 / unter Östrogen-Langzeitbehandlung bei ovariektomierten Ratten eine signifikant niedrigere Gewichtszunahme als in der Kontrollgruppe.

BERNICK & ERSHOFF / 18 / erzielten durch tägliche Cortison-Injektionen bei 230 g schweren Ratten über drei Wochen eine erhebliche Gewichtsabnahme. BORLE et al. / 23 / beschreiben einen Gewichtsverlust von 75 g in einer Woche bei 300 g schweren Ratten unter täglicher subcutaner Prednisolon-Injektion.

Bei der Suche nach der Ursache der verminderten Körpergewichtszunahme beziehungsweise des Gewichtsverlusts muß zwischen jungen und ausgewachsenen Versuchstieren unterschieden werden: bei Jungtieren ist allein durch Beeinflussung der Epiphysenfugen im Sinne einer Hemmung des Längenwachstums eine schwerwiegende Störung der normalen Körpergewichtsentwicklung möglich; insbesondere würde sekundär auch die entsprechende Zunahme der Muskelmasse ausbleiben.

Bei ausgewachsenen Versuchstieren ist eine Verminderung des Körpergewichts in dem von den genannten Autoren beobachteten Ausmaß nur durch parallel ablaufende extraossäre Vorgänge zu erklären, da das Skelett selbst nur 6 bis 7 % des Körpergewichts ausmacht (HOPPE-SEYLER/THIERFELDER) / 81 /, der Gewichtsverlust im zitierten Beispiel aber 20 bis 25 % erreicht. Für die Corticoide würde dies mit der Vorstellung der allgemein antianabolen beziehungsweise katabolen Stoffwechsel-Wirkung in Verbindung zu bringen sein, deren auf den Knochen bezogene Aspekte früher (Seite 29 ff.) diskutiert wurden. Während die wachstumshemmende Wirkung der Corticosteroide auf das jugendliche Individuum allgemein ebenso bekannt ist wie die katabolisierende Beeinflussung des N-, P- und Ca-Stoffwechsels beim erwachsenen Individuum, ist die verminderte Körpergewichtszunahme unter Östrogen-Behandlung pathogenetisch nicht zweifelsfrei geklärt. AHO et al. / 2 / fanden parallel zu der niedrigeren Gewichtszunahme der Östrogen-behandelten Ratten eine entsprechende Wachstumsverminderung der Femora, die, gemessen sowohl an der Femurlänge als auch am -gewicht, signifikant war. Möglicherweise hat also auch die negative Wirkung der Östrogene auf das Körpergewicht ihren unmittelbaren Angriffspunkt am wachsenden Knochen, indem Östrogen ähnlich dem Cortison die normalen Längenwachstumsvorgänge hemmt. FOLLIS / 59 / meint denn auch, daß die histologischen Veränderungen wachsender Rattenknochen unter Cortison-Einfluß "in höchstem Maß an diejenigen erinnern, die unter großen Gaben von Östrogen zu beobachten sind".

Schließlich bedarf die konstant niedrige Gewichtszunahme der mit Natriumfluorid behandelten Ratten einer Erklärung. Da der Wirkungsmechanismus der Fluor-Behandlung noch weitgehend unbekannt ist - man diskutiert sowohl eine erschwerte Knochenresorption als auch eine gesteigerte Knochenneubildung mit allerdings verzögerter Mineralisation (REUTTER et al. / 133 /) -, kann auch über die Pathogenese der verminderten Gewichtszunahme nicht mehr als eine Vermutung geäußert werden: da nämlich "die positiven Effekte nahe an der Grenze zur toxischen Fluor-Schädigung liegen (SCHENK / 138 /), ist es nicht ausgeschlossen, daß die verminderte Körpergewichtszunahme bereits Ausdruck einer gewissen Fluor-Vergiftung sein könnte, zumal die Versuchstiere der E-Gruppe schon äußerlich durch mangelnde Vitalität und struppiges Fell auffielen.

2. Calcium im Serum

Die Angaben über den Calcium-Gehalt des Serums normaler Ratten schwanken zwischen 5,37 ± 0,62 (BORLE et al. / 23 /) und 6,5 - 7,0 mVal/l (HARRISON & FRASER / 72 /). Praktisch identisch mit den Angaben der erstgenannten Autoren sind die für die Kontrolltiere bestimmten Serum-Calcium-Werte (10,83 ± 0,32 mg/100 ml).

Corticoid-Behandlung mit Prednisolon senkte bei erwachsenen Ratten den Serum-Calcium-Spiegel (nicht signifikant) von 5,34 auf 4,86 mVal/l; andererseits führte auch die Adrenalektomie bei erwachsenen Ratten zu einer unbedeutenden Senkung der Calcium-Konzentration im Serum (BORLE et al. / 23 /). Die Behandlung mit Dexamethason bei den eigenen Untersuchungen führte dagegen zu einem signifikanten erheblichen Anstieg des Serum-Calcium-Gehalts auf 13,67 mg/100 ml (Serie I).

Bei den jüngeren Versuchstieren der Serie III dagegen wurde unter Dexamethason-Behandlung eine Calcium-Konzentration von 10,6 ± 0,2 mg/100 ml Serum ermittelt, wobei aber keine Kontrollgruppe zum Vergleich zur Verfügung stand.

Trotz des unterschiedlichen Niveaus war in beiden Serien ein statistisch hochsignifikanter Unterschied zwischen den Östrogen- und den Calcium-behandelten Corticoid-Tieren zu registrieren in dem Sinn, daß zusätzliche Calcium-Behandlung den Calcium-Spiegel nur leicht erhöhte (Serie III) oder unverändert ließ (Serie I), während die Östrogen-Medikation einen deutlich mindernden Einfluß ausübte.

Da die Serum-Calcium-Konzentration, unter physiologischen Bedingungen eine exakt geregelte Konstante (Seite 24), bei Überforderung der Kompensationsmechanismen, zum Beispiel durch hochdosierte Hormon-Behandlung, auf sehr verschiedene Weise verändert werden kann, sind allein aus der Höhe des Calcium-Spiegels im Serum pathogenetische Schlüsse zwar nicht möglich; da andererseits nach bisheriger Erfahrung aber durch Corticoide die intestinale Calcium-Resorption vermindert (BORLE et al. / 23 /) und die renale Calcium-Ausscheidung erhöht wird (LAAKE / 100 /), bleibt als pathogenetischer Mechanismus der Serum-Calcium-Erhöhung unter Dexamethason-Behandlung nur eine Verminderung des Calcium-Einbaus in den Knochen oder eine erhöhte Calcium-Mobilisation aus dem Skelett übrig. Diese Interpretation könnte unterstützt werden durch die Feststellung, daß unter Dexamethason eine besonders ausgeprägte katabole Stoffwechsellage mit Calcium- und Phosphor-Verlusten gefunden wird (DUNCAN & STUCKI / 50 /).

Während die zusätzliche Calcium-Behandlung nicht (Serie I) beziehungsweise nur in geringem Maß (Serie III) den Calcium-Spiegel über den der Corticoid-Tiere hinaus anhob, fand sich unter Östrogen-Behandlung ein gegenüber Gruppe D in beiden Serien eindeutig, gegenüber Gruppe B weniger deutlich vermindertes Serum-Calcium. Auch aus diesem Befund lassen sich zwingende Schlüsse nicht ableiten; immerhin wäre denkbar, daß entweder die durch Dexamethason erhöhte Calcium-Mobilisation aus dem Skelett durch Östrogen gehemmt oder der durch Dexamethason verminderte Einbau von Calcium in den Knochen durch Östrogen gesteigert werden kann.

Schwierig ist auch die Beurteilung des hohen Serum-Calciums bei der Gruppe D, weil ohne Isotopen-Studien dessen Herkunft nicht geklärt werden kann: so könnte entweder das aus dem Darm resorbierte zusätzliche Calcium ebenso wie die Östrogen-Zufuhr die Knochenmobilisation hemmen beziehungsweise seinen Anbau fördern (wobei der höhere Calcium-Spiegel aus zusätzlicher Zufuhr resultierte), oder das angebotene Calcium würde nicht resorbiert, und die erhöhte Knochenmobilisation würde ungehindert fortschreiten, beziehungsweise es würde weiterhin wenig Calcium eingebaut (in diesem Fall stammte das erhöhte Serum-Calcium aus Knochenmineral); da aber noch weitere nicht untersuchte Parameter des Calcium-Stoffwechsels eine Rolle spielen können, bleibt es fraglich, wieweit Rückschlüsse aus der Serum-Calcium-Konzentration auf Knochenanbau oder -resorption gezogen werden können.

Unabhängig vom diskutierten Mechanismus können aber die signifikanten Differenzen des Serum-Calciums als Beweis einer Effektivität der unterschiedlichen Behandlung gelten.

3. Anorganisches Phosphat im Serum

Der auffallende Unterschied zwischen den Phosphat-Konzentrationen in der I. und der III. Serie entspricht einer schon von HESS et al. / 77 / getroffenen Feststellung, daß jüngere Ratten einen höheren Serum-Spiegel aufweisen als ältere. Gleiche Verhältnisse des Serum-Phosphats sind von Kindern und Erwachsenen bekannt.

HARRISON & FRASER / 72 / geben für normale Ratten eine Phosphat-Konzentration von 5,85 - 6,90 mg/100 ml an, BORLE et al. / 23 / eine solche von 2,25 $\pm$ 0,23 mMol/l. Nach RAUEN / 130, Seite 844 / beträgt der anorganische Phosphor im Serum 2 - 6 mg/100 ml. Der Normalwert der eigenen Ergebnisse (Serie I, Gruppe A) entsprach mit 4,12 mg/100 ml dem angegebenen Bereich, konnte aber nur in einem Fall bestimmt werden. Die ebenso nur in einem Fall gefundene Senkung des Serum-Phosphats unter Dexamethason-Behandlung war genauso ungesichert.

In gleicher Weise bestimmten jedoch auch BORLE et al. / 23 / bei Prednisolon-behandelten Ratten den Phosphor-Spiegel im Serum etwas niedriger, während Adrenalektomie zu einem Anstieg führte. Als möglicher Mechanismus kann eine verminderte tubuläre Phosphat-Reabsorption unter dem Einfluß von Corticoiden gelten (BORLE et al. / 23 /). Unter zusätzlicher Calcium-Behandlung (Gruppe D) war die Serum-Phosphor-Konzentration gegenüber der Östrogen-behandelten Corticoid-Gruppe und gegenüber der nur Dexamethason-behandelten Gruppe B signifikant vermindert (Serie III). Betrachtet man die Veränderungen der Calcium- und Phosphor-Konzentration im Zusammenhang mit der Nebenschilddrüsen-Funktion, mit der die Genese der Corticoid-Osteopathie ja in Verbindung gebracht worden ist (Seite 32 f.), so könnten niedriger Calcium- und hoher Phosphor-Spiegel (Gruppe A, Serie I) als Kennzeichen einer niedrigen Parathormon-Aktivität aufgefaßt werden, während andererseits hoher Calcium-Spiegel bei vermindertem Serum-Phosphat (Gruppe D) verdächtig auf einen Hyperparathyreoidismus wäre. Andererseits ist aber die Phosphor-Konzentration im Serum in noch stärkerem Maß, als das für Calcium beschrieben wurde (Seite 24 f.), von verschiedenen ineinandergreifenden Regelmechanismen abhängig und weit weniger konstant als der Serum-Calcium-Spiegel, vor allem deshalb, weil nach heutiger Ansicht die einzige Regelgröße der Parathormon-Sekretion in der Höhe des ionisierten Serum-Calciums und nicht, wie früher vermutet, auch in der Höhe des Phosphor-Spiegels zu sehen ist. Da die beiden Hauptwirkungen des Parathormons, die erhöhte Knochenresorption und die verminderte renal-tubuläre Phosphat-Reabsorption, ebenfalls im Gegensatz zu früherer Auffassung, von einem chemisch einheitlichen Stoff hervorgerufen werden, ergibt sich die Höhe des Phosphor-Spiegels erst sekundär als Resultante der Parathormon-bedingten Mobilisation aus dem Skelett und der renalen Phosphor-Ausscheidung. Damit wird die stärkere Abhängigkeit der Phosphat-Konzentration im Serum von anderen

Faktoren, besonders der Nierenfunktion, verständlich und die Schwierigkeit, veränderte Phosphat-Spiegel zu interpretieren, erhöht.

4. Alkalische Serum-Phosphatase

HARRISON & FRASER / 72 / fanden bei normalen Ratten eine Aktivität der alkalischen Phosphatase von 21 - 24 KING-ARMSTRONG-Einheiten; bei Calcium- und Vitamin-D-Mangel-Ratten stieg dieser Wert auf das Doppelte bis Dreifache an, bei alleinigem Calcium-Mangel war eine leichte Erhöhung auf 21 bis 38 KAE festzustellen. Da bei den eigenen Untersuchungen die alkalische Phosphatase nur in der Serie III bestimmt wurde, die eine Kontrollgruppe A nicht enthielt, ist ein unmittelbarer Vergleich der Normalwerte nicht möglich; unterstellt man, daß die Phosphatase-Aktivität einer eigenen Kontrollgruppe den Werten von HARRISON & FRASER entsprechen würde, wäre die alkalische Phosphatase im Serum der B-Tiere deutlich erhöht, in den Seren der Gruppen C und D dagegen vermindert. In jedem Fall ist, bezogen auf die Corticoid-behandelte Gruppe, sowohl durch zusätzliche Calcium-Zufuhr als auch in noch stärkerem Maß durch Östrogen-Behandlung eine eindeutige, signifikante Verminderung der Aktivität der alkalischen Phosphatase hervorgerufen worden.

Da die alkalische Phosphatase als Parameter für die Osteoblasten-Funktion gilt (DULCE / 49 /), können die Ergebnisse möglicherweise so interpretiert werden, daß Östrogen-Behandlung noch stärker als Calcium-Zufuhr bei Dexamethason-behandelten Ratten die Osteoblasten-Funktion reduziert im Vergleich mit den nur Steroid-behandelten Tieren. Falls diese Annahme zutrifft, was sich ohne Kenntnis zusätzlicher Daten nicht beweisen läßt, müssen dabei die früher (Seite 24 f.) angesprochenen Zusammenhänge berücksichtigt werden: eine der entscheidenden regulatorischen Verknüpfungen im Knochenstoffwechsel ist die unter normalen Verhältnissen bestehende Koppelung zwischen Knochenanbau und -resorption. Allgemein

formuliert, entsteht ja jede Osteoporose pathogenetisch dadurch, daß eine Differenz zwischen beiden Prozessen zugunsten der Knochenresorption auftritt (Seite 7). Mit welcher Geschwindigkeit sich diese Vorgänge abspielen, ist sehr unterschiedlich: dementsprechend können Osteoporosen auch danach charakterisiert werden, ob

1. bei erhöhtem Anbau die Resorption stärker gesteigert,
2. bei normalem Anbau die Resorption erhöht,
3. bei vermindertem Anbau die Resorption erhöht,
4. bei reduziertem Anbau die Resorption normal oder
5. bei stark vermindertem Anbau die Resorption weniger stark reduziert ist.

Nach Messungen mittels Isotopen-Methoden und mikroradiographischer Untersuchungen ist jede der genannten Konstellationen bei Osteoporosen beschrieben worden (HAIKE et al. / 71 /; HIOCO / 79 /; HAAS / 69 /). Die Knochen-Bilanz ist in jedem Fall negativ, der Unterschied liegt in der von Nr. 1 nach Nr. 5 abnehmenden Höhe des Knochenumsatzes.

Auch am einzelnen Knochen kann die vermutete Koppelung zwischen Anbau und Resorption am Beispiel der von BAUER, zit. DULCE / 14 / bestimmten Calcium-Auflagerung und -Resorption demonstriert werden: BAUER fand in der Epi-/Metaphyse der Ratten-Tibia eine Calcium-Auflagerung von 3,36 mg pro Tag bei einer Resorption von 2,88 mg; in der Diaphyse desselben Knochens betrug die Calcium-Auflagerung nur 0,72 mg, die Resorption 0,24 mg täglich, es resultiert in beiden Fällen also ein Netto-Calcium-Einbau von 0,48 mg pro Tag bei um eine Zehnerpotenz verschiedenem Umsatz.

Wie oben erwähnt, besteht das gemeinsame metabolische Kennzeichen aller Osteoporosen also darin, daß das normalerweise ausgeglichene Verhältnis zwischen Knochenanbau und Knochenresorption gestört ist. Die Zusammenhänge in dieser für die Pathogenese vieler Osteoporosen zentralen Frage sind letztlich

ungeklärt, zumal schon beim gesunden Individuum über die gegenseitige Abhängigkeit von Knochenanbau und -resorption nur hypothetische Vorstellungen existieren. Zwar sind die Wirkungen der (auf Seite 23 erwähnten) Hormone auf den Knochen tierexperimentell weitgehend geklärt: Parathormon fördert die Knochenresorption und hemmt den Anbau, Thyreocalcitonin wirkt gegensätzlich durch Hemmung der Parathormon-Wirkung, aber auch unabhängig davon (RASMUSSEN & TENENHOUSE / 128 /), die Corticosteroid-Wirkung auf den Knochen wurde oben (Seite 29 ff.) diskutiert, von den "anabolen" Hormonen erwartete man früher eine Knochenanbau-fördernde Wirkung, während neuere Anschauungen eher eine Hemmung der Knochenresorption annehmen. Somatotropes und Schilddrüsenhormon dürften unter normalen Bedingungen beim erwachsenen Organismus eine untergeordnete Rolle spielen. Trotz der experimentell im wesentlichen bekannten Einzelwirkung der genannten Hormone auf den Knochen ist aber deren physiologische Bedeutung nicht vollständig geklärt, noch viel weniger die Frage, wie der gesunde Organismus es erreicht, daß trotz ständiger lebhafter Knochen-Umbauvorgänge und ungeachtet häufig wechselnder Anforderungen des Mineralstoffwechsels die Knochen-Bilanz einen relativ konstanten, in Abhängigkeit vom Lebensalter zuerst leicht positiven, später leicht negativen, immer nahe bei Null liegenden Wert annimmt. HEANY meint, daß die "beiden Prozesse irgendwie gekoppelt zu sein scheinen", wobei er sich vorstellt, daß die Knochenresorption "nach der Pfeife der Knochenbildung tanzt" / 75 /. Einen Zusammenhang in umgekehrter Richtung könnte man dagegen aus dem klinisch bekannten Befund der Erhöhung der alkalischen Phosphatase bei Hyperparathyreoidismus ableiten: die unmittelbare Parathormon-Wirkung besteht nachweislich unter anderem in einer Verminderung der Osteoblasten-Aktivität; da die alkalische Phosphatase als Maß für die Knochenanlagerung zu verwerten ist, wäre somit eine niedrige Phosphatase-Aktivität zu erwarten; aus dem gegenteiligen Verhalten der alkalischen Phosphatase kann demnach nur auf kompensatorische, reparative Knochenneubildungsvorgänge

geschlossen werden.

Ob nun die postulierte Koppelung zwischen Knochenanbau und -resorption in der einen oder anderen Weise abläuft oder ob die Netto-Bilanz als Regelgröße einer übergeordneten Steuerung anzusehen ist, sei dahingestellt; jedenfalls sprechen einige Argumente dafür, daß eine solche Koppelung in irgendeiner Weise besteht.

Betrachtet man nun die Ergebnisse der eigenen Untersuchungen in diesem Zusammenhang, so wäre eine mögliche Erklärung für den Befund einer verminderten Aktivität der alkalischen Phosphatase unter Calcium- beziehungsweise Östrogen-Zufuhr bei Corticoid-behandelten Ratten die, daß eine angenommene primär erhöhte Knochenresorption unter Corticoiden sekundär eine erhöhte Knochenbildung mit entsprechender Erhöhung der alkalischen Phosphatase verursacht haben könnte und daß sowohl die erhöhte Resorption als auch die gesteigerte Knochenneubildung durch Zufuhr von Calcium und noch stärker durch Östrogen-Verabreichung verhindert worden wäre. Aus der Literatur berichtete Fütterungsversuche von Ratten mit hohen Calcium-Gaben zeigten uneinheitliche Ergebnisse: während DUCKWORTH & ELLINGER / 47 / eine Calcium-Mangel-Osteoporose bei Ratten mit Calcium-Zufuhr heilen konnten, wurde bei Cortison-behandelten Ratten durch gleichzeitige Calcium-Gaben die Entwicklung einer Osteoporose nicht verhindert (CALDWELL / 29 /).

Die Östrogen-Wirkung auf den Rattenknochen ist häufiger untersucht worden. Mehrere Autoren fanden dabei eine Verminderung der Knochenresorption, gemessen an Isotopen-Techniken (LINDQUIST et al. / 104 /), kombiniert mit autoradiographischen Untersuchungen. Histologisch betrachtet, verhindert die Behandlung mit Östrogenen die Resorption der sekundären Spongiosa der wachsenden langen Knochen bei Ratten (MC LEAN & URIST / 109 /).

Faßt man die genannten Gesichtspunkte zusammen, so würde durch die in der Literatur beschriebenen Befunde die oben (Seite 91

gegebene Erklärung des Verhaltens der alkalischen Phosphatase für die Östrogen-Wirkung durchaus, für die Wirkung von Calcium-Gaben nur teilweise gestützt.

5. Femur-Frischgewicht

Die Frischgewichte der Femora zeigten wie die Körpergewichte eine relativ große interindividuelle Streubreite: für die Kontrolltiere (Gruppe A) wurde in der Serie I ein Femurgewicht von 667,5 ± 37,2 mg oder 0,272 % vom Körpergewicht, bei den älteren Ratten der Serie II 787 ± 78 mg, entsprechend 0,304 % vom Körpergewicht bestimmt. Alle Gruppen zusammengenommen, schwankte das Femurgewicht in Serie I zwischen 478,8 mg und 793,6 mg, in Serie II zwischen 659 und 932 mg und in Serie III zwischen 225 und 406 mg. Auch wenn man das Femurgewicht in Prozent des Körpergewichts ausdrückt, bleibt die Altersabhängigkeit der Werte erhalten: wiederum alle Gruppen einer Serie zusammen betrachtet, liegt der Anteil des Gewichts eines Femurs am Körpergewicht in Serie III (jüngste Versuchstiere) mit 0,167 bis 0,231 % am niedrigsten, in Serie II (älteste Versuchstiere) mit 0,285 bis 0,334 % am höchsten und in Serie I mit 0,200 bis 0,294 % dazwischen. Das Femurgewicht hat damit bei den älteren Ratten überproportional zugenommen. Auch innerhalb der einzelnen Gruppen ist ein gleichartiges Verhalten festzustellen, indem die schwersten Tiere einer Gruppe nicht nur, wie zu erwarten, absolut, sondern auch relativ zum Körpergewicht die schwersten Femurknochen hatten; dies gilt besonders für die jungen Ratten der Serie III.

Abgesehen von diesen von der Vorbehandlung unabhängigen allgemeinen Feststellungen waren statistisch gesicherte Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen nicht nachzuweisen. Die in Serie II zusätzlich durchgeführte (und in den Tabellen nicht enthaltene) Bestimmung der Tibia-Gewichte brachte, in Milligramm und in Prozent des Körpergewichts gemessen, die gleichen Ergebnisse.

Auffallend war lediglich, daß in den Serien I und III sowohl das absolute als auch das relative Femurgewicht der mit Corticoiden und Calcium behandelten Gruppe vermindert war. Ähnlich hatten GAUNT & IRVING, zit. AHO et al. / 62 / unter hohen Calcium-Gaben bei niedriger Phosphor-Zufuhr ein vermindertes Femurgewicht bei Ratten beschrieben. Eine Verminderung des relativen Femurgewichts, wie sie AHO et al. / 2 / bei ovariektomierten Ratten nach halbjähriger Östrogen-Behandlung beschreiben, fand sich bei den eigenen, kürzer mit Östrogen und zugleich mit Dexamethason behandelten Versuchstieren nicht.

6. Trockensubstanz beziehungsweise Wassergehalt des Knochens

Das Femur-Trockengewicht lag in der Serie I, unabhängig von der Zugehörigkeit zu den einzelnen Gruppen betrachtet, zwischen 0,137 und 0,208 % des Körpergewichts, in Serie II zwischen 0,182 und 0,222 % des Körpergewichts und in Serie III zwischen 0,139 und 0,193 des Körpergewichts.

Für die Kontrollgruppe A wurde in Serie I ein Normalwert von 0,183 $\pm$ 0,007 % vom Körpergewicht, in Serie II ein solcher von 0,195 $\pm$ 0,009 % vom Körpergewicht bestimmt.

Für den Wassergehalt im frischen Femur lagen die Prozentzahlen der einzelnen Tiere in Serie I zwischen 29,28 und 33,51 %, in Serie II zwischen 30,69 und 37,54 % und in Serie III zwischen 29,31 und 32,31 %.

Die in der ersten Serie gesondert durchgeführte Bestimmung des Wasser- beziehungsweise Trockensubstanz-Gehalts im proximalen, distalen und diaphysären Teil des Femurs brachte zwar ebenso wenig verwertbare Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen wie die ganzen Femora, es fanden sich aber in konstanter Weise jeweils der höchste Wassergehalt im distalen Femurende, der niedrigste Wassergehalt oder höchste Trockensubstanz-Anteil in der Femur-Diaphyse und mittlere Werte in Femurkopf und Schenkelhals.

Bei fehlenden signifikanten Differenzen fiel sowohl im Femur als auch in der Tibia in allen drei Serien ein relativ niedriger

Wassergehalt der Femora der Dexamethason-Ratten gegenüber den Kontrolltieren auf. Denselben Befund hatten auch BORLE et al. / 23 / bei Ratten unter Prednisolon-Behandlung erhoben.

In der Tibia lag der Wassergehalt regelmäßig um 2,6 (2,4 bis 2,9)% über beziehungsweise der Trockensubstanz-Gehalt entsprechend unter den im Femur gemessenen Werten. Außerdem ergab der in Serie II mögliche Vergleich zwischen dem Wassergehalt im Femur und in der Tibia genau die gleiche Reihenfolge der einzelnen Gruppen, wobei Gruppe B den geringsten und Gruppe A den höchsten Wassergehalt aufwies und die anderen Gruppen in der Reihenfolge C, E, D dazwischen lagen. Die gute Übereinstimmung der Daten von Femur und Tibia ist geeignet, die Genauigkeit der Ergebnisse zu bestätigen.

7. Fettgehalt des Knochens

Im Femur lag der Fettgehalt zwischen 0,480 und 4,25 %, in der Tibia zwischen 1,91 und 4,07 % des Frischgewichts. Die Werte waren relativ breit gestreut; es bestand weder eine Parallelität des Fettgehalts im Femur und in der Tibia bei den einzelnen Tieren der Serie II, noch ließen sich signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen nachweisen.

8. Fettfreie Trockensubstanz im Knochen

Der Gehalt an fettfreier Trockensubstanz im Femur zeigte die gleichen Tendenzen wie der Trockensubstanz-Gehalt: es ergaben sich keine verwertbaren Unterschiede bei verschiedener Vorbehandlung, auch nicht bei Bezugnahme auf das Körpergewicht. In der Tibia (Serie II) war in den einzelnen Gruppen jeweils 2,0 bis 2,6 % mehr fettfreie Trockensubstanz enthalten als in den Femora der gleichen Gruppe.

In beiden Knochen war wie für die Trockensubstanz ein von B nach A abnehmender Gehalt an fettfreier Trockensubstanz zu verzeichnen, wobei die Unterschiede genausowenig signifikant waren wie für die Trockensubstanz.

9. Organische und fettfreie organische Substanz sowie Kollagengehalt im Knochen

Da von der organischen Substanz im wesentlichen der fettfreie

Anteil und davon hauptsächlich der Kollagengehalt interessiert, werden diese drei Größen zusammen diskutiert. Während die bisher genannten Parameter höchstens partiell abweichende Ergebnisse von Serie zu Serie boten, fielen für die nachfolgenden Meßwerte teilweise gegensätzliche Ergebnisse unter verschieden langer Behandlung bei den unterschiedlich alten Versuchstieren auf. Dies gilt einmal für den Gehalt an organischer beziehungsweise fettfreier organischer Substanz im Femur: in Serie I (kurze Behandlungsdauer) fand sich ein signifikant höherer Gehalt an organischer beziehungsweise fettfreier organischer Substanz in den Femora der Östrogen-behandelten Corticoid-Gruppe (C) gegenüber den Kontrolltieren (Gruppe A) und den Calcium-behandelten Corticoid-Ratten (D). In der Serie II (längere Versuchsdauer, ältere Tiere) waren keinerlei signifikante Unterschiede nachweisbar. In Serie III dagegen enthielten die Knochen der Gruppe C etwas weniger organische Substanz als Gruppe B (Corticoid-Tiere) und signifikant weniger als die Calcium-reich ernährte Gruppe D. Für fettfreie organische Substanz bestanden dieselben Verhältnisse, die Unterschiede waren aber nicht signifikant.

Die (nur in Serie III durchgeführte) Hydroxyprolin-Bestimmung ergab einen signifikant höheren Kollagen-Gehalt der Calcium-Gruppe, verglichen mit der nur Dexamethason-behandelten Gruppe. Die Werte der Östrogen-Gruppe lagen dazwischen.

Eine Beurteilung von Veränderungen des Gehalts an organischer Substanz im Knochen unter der Behandlung mit Corticoiden, Östrogen und Calcium ist zweifellos nur unter Einbeziehung der unter solcher Medikation beobachteten histologischen Bilder sinnvoll; nach Tierversuchen werden diese folgendermaßen beschrieben:

Unter Cortison kam es bei Kaninchen zu einer offenbar durch osteoklastische Resorption verursachten Osteoporose, deren Auftreten durch unausgeglichenen Calcium-Phosphor-Quotienten in der Nahrung noch beschleunigt wurde. Zusätzliche Calcium-Gaben veranlaßten die Bildung leicht verbreiterter Epiphysenknorpel und osteoider Säume sowie einer beträchtlichen Porose

(STOREY / 146 /). Ebenfalls eine "Cortison-Osteoporose", jedoch ohne Vermittlung durch Osteoklasten, hatten URIST & DEUTSCH / 159 / bei Vögeln gefunden.

Bei jungen Ratten beschrieb FOLLIS / 59 / unter Cortison in einer Dosierung ab 40 mg pro Kilogramm Körpergewicht und Tag eine charakteristische metaphysäre Sklerose, wobei relativ große Mengen stark mineralisierter Knorpelgrundsubstanz von neugebildetem Knochen eingeschlossen wurde. War bei diesen Cortison-behandelten jungen Ratten die Menge des zugeführten Calciums gering oder das Verhältnis zu Phosphor unausgeglichen, so wurde statt der metaphysären Sklerose eine Osteoporose gefunden (STOREY / 146 /). Eine markante Osteoporose der juxtaepiphysären distalen Femur- und proximalen Tibiametaphyse entwickelte sich auch bei den adrenektomierten und orchidektomierten Ratten von CALDWELL / 29 /, die 100 Tage lang 7 mg Cortison pro Kilogramm Körpergewicht und eine Kost erhielten, die 0,7 % Calcium und 0,8 % Phosphor enthielt.

BORLE et al. / 23 / bestätigten die Existenz eines "dichten Netzwerks dicker Trabekel" bei jungen Ratten unter 10 mg Prednisolon täglich. Bei älteren Ratten fehlte die Verschmälerung und massive Verkalkung des Wachstumsknorpels; die Veränderungen der primären Spongiosa waren weniger ausgeprägt als bei den Jungtieren.

HULTH & OLERUD / 82 / fanden, daß das periostale Knochenwachstum unter täglicher Applikation von 50 mg Cortison pro Kilogramm Körpergewicht fast völlig sistierte; bei halb so hoher Dosis waren die Veränderungen weniger deutlich.

Mittels intravitaler Tetracyclin-Markierung konnte TEIGELER / 152 / zeigen, daß unter Dexamethason-Behandlung bei Ratten die markierten Anbauzonen analog der Gesamtknochendichte abnahmen.

Aus den zitierten und anderen Untersuchungen lassen sich eine Reihe von Hinweisen gewinnen, die darauf hindeuten, daß die Corticoid-Wirkung auf das Skelett in gewissem Maß Spezies-, alters- und dosisabhängig ist und von anderen Faktoren, wie der

Mineralzufuhr mit der Nahrung, entscheidend beeinflußt werden kann.

In mancher Hinsicht ähnliche Verhältnisse wie unter Corticoiden mit zum Teil noch widersprüchlicheren Ergebnissen finden sich tierexperimentell unter Östrogen-Einfluß bei der Ratte: bei den Jungtieren wirkt Östrogen-Behandlung hauptsächlich auf die Knochenmetaphyse, deren Dichte deutlich erhöht wird. Wegen ausbleibender Resorption resultieren verlängerte und verbreiterte Spongiosabälkchen (BUDY et al. / 26 /). Die nach dem histologischen Bild zu erwartende Verminderung der Knochenresorption bei Östrogen-behandelten Ratten wurde durch kinetische Untersuchungen mit ^{45}Ca und durch autoradiographische Methoden von LINDQUIST et al. /104 / nachgewiesen; sie fand sich in der Tibia nur in der Spongiosa, nicht in der Corticalis.

Während MC LEAN & URIST / 109 / betonen, daß die Resorptionshemmung unter Östrogen-Einfluß bei Ratten ausschließlich die sekundäre Spongiosa der langen Knochen betrifft, ohne das Längenwachstum zu beeinflussen, fanden AHO et al. / 2 / eine erhebliche Wachstumsverminderung der Femora unter wöchentlich zweimaliger Injektion eines Östradiol-Präparates. Im Gegensatz dazu steht der Befund von CALDWELL / 29 /, der nach Erzeugung der oben (Seite 97 f.) beschriebenen Cortison-induzierten Veränderungen eine starke Längenzunahme und juxtaepiphysäre Knochenneubildung in den Rattenfemora unter täglich 20 Mikrogramm Östradiol-Monobenzoat während 60 Tagen beobachtete; histologisch fand sich eine Aktivierung der epiphysären Knorpelwucherung und -reifung und eine Stimulation der Osteoblasten. TEIGELER fand, daß die Entwicklung einer durch Dexamethason bei Ratten auslösbaren Osteoporose durch gleichzeitige Zufuhr von Östrogenen verhindert werden konnte / 152 /. Keinen Erfolg einer zusätzlichen Östrogen-Behandlung (im Sinne einer schnelleren Osteoporose-Heilung) konnten DUCKWORTH & ELLINGER / 47 / bei Ratten mit Calcium-Mangel-Osteoporose während der Heilung der Osteoporose durch Calcium-Zufuhr nachweisen.

Eine völlig andere Reaktion als bei Ratten ist unter Östrogen-Einfluß bei Vögeln nachweisbar: in der präovulatorischen Phase wächst unter dem Einfluß von Östrogenen vom Endost aus, wo sich das Hormon ansammelt, ein spongiöses Knochengewebe in die Markhöhle hinein (MC LEAN & URIST / 109 /). Diese bei weiblichen Vögeln biologisch sinnvolle Reaktion zur Vorbereitung der Eierschalenbildung durch Mineralsalzspeicherung läßt sich auch bei männlichen Vögeln durch exogene Östrogen-Zufuhr auslösen. Eine ähnliche Knochenbildung findet sich jedoch auch bei Mäusen unter Östrogen-Behandlung, ohne daß eine solche Reaktion hier physiologischerweise auftritt. Bei anderen Labortieren einschließlich der Ratte scheint dagegen eine derartige Knochenbildung nicht aufzutreten.

Aus diesen Befunden geht auch für die Östrogen-Wirkung auf den Knochen in ähnlicher Weise wie für den Corticoid-Einfluß eine nicht nur quantitative Abhängigkeit von Spezies, Lebensalter, Hormondosis beziehungsweise Applikationsdauer hervor.

Bei den eigenen Untersuchungen hat offenbar die unterschiedliche Vorbehandlungsdauer beziehungsweise die differierende Gesamtmenge der applizierten Hormondosis zu einem gegensätzlichen Verhalten der Östrogen-Gruppe (C) in bezug auf den Anteil der organischen beziehungsweise fettfreien organischen Substanz im Femur bei kürzerer (Serie I) und längerer Behandlung (Serie III) geführt; die Ursache dafür kann möglicherweise darin gesehen werden, daß die erwähnte Reaktion der Femurmetaphyse auf Östrogene in Abhängigkeit vom Lebensalter und von der Behandlungsdauer quantitativ zunehmend ins Gewicht fällt: die stärkste Ausdehnung unresorbierter metaphysärer Spongiosa ist bei den jüngsten, am längsten Östrogen-behandelten Ratten zu erwarten. Da aus mikroradiographischen Untersuchungen bekannt ist, daß ältere Knochenanteile stärker mineralisiert sind als frisch gebildete, könnte damit der höhere Mineralgehalt beziehungsweise niedrigere Gehalt an organischer Substanz der Östrogen-Gruppe in Serie III zusammenhängen.

Da die fettfreie organische Substanz im Knochen, abgesehen von einem geringen Anteil Zellen, normalerweise zu über 90 % aus Kollagen besteht, während der Rest sich aus Mucopolysacchariden und Mucoproteiden zusammensetzt (MC LEAN & URIST / 109 /), würde man im allgemeinen eine Proportionalität zwischen organischer (beziehungsweise fettfreier organischer) Substanz und Kollagen-Gehalt erwarten. Genaueren Aufschluß über diese Frage würde natürlich nur die Bestimmung der einzelnen Komponenten geben. Der in Serie III aus der Hydroxyprolin-Bestimmung berechnete Kollagen-Gehalt zeigt nun die erwartete Proportionalität nur teilweise: am höchsten ist der Gehalt an organischer, fettfreier organischer Substanz und Kollagen in der Gruppe D; den geringsten Anteil organischer Substanz weist Gruppe C auf, dagegen liegt der Kollagen-Gehalt in der Gruppe B am niedrigsten, wobei die Unterschiede signifikant sind. Anders formuliert, besteht die (fettfreie) organische Substanz in der Östrogen-Gruppe (C) zu einem größeren Teil aus Kollagen als in der nur Dexamethason-behandelten Gruppe B.

Setzt man dementsprechend die Ergebnisse der Kollagen-Bestimmung in der fettfreien Trockensubstanz in Relation zu dem Gehalt an fettfreier organischer Substanz (Tabelle 24), so ergibt sich ein statistisch gesicherter Unterschied zwischen den Gruppen B und C. Ob diesem Befund tatsächlich Abweichungen in Gehalt oder Zusammensetzung der nicht vom Kollagen repräsentierten Anteile der fettfreien organischen Substanz, also der Mucopolysaccharide oder Mucoproteide, zugrunde liegen, könnte direkt nur durch quantitative Bestimmung der Komponenten der Grundsubstanz bewiesen werden. Daß solche Abweichungen bei der Corticoid-Osteopathie wahrscheinlich sind, wurde bereits erwähnt (Seite 35 f.) und könnte auch durch folgende Befunde gestützt werden:

MC LEAN & URIST / 109/ beschreiben eine Zunahme der Mucoproteide im Verhältnis zum Faserprotein (also einen geringeren Anteil des Kollagens an der fettfreien organischen Trockensubstanz) mit zunehmendem Lebensalter; LINDENBAUM & KUETTNER / 103 / finden

starke Differenzen der Grundsubstanzzusammensetzung in Abhängigkeit vom jeweiligen Ossifikationsstadium. JESSERER / 85 / sieht in den Cortison-bedingten Veränderungen des Bindegewebes bei Ratten eine Vorverlegung des physiologischen Alterungsprozesses, charakterisiert durch eine Verschiebung der Relation von Mucopolysaccharid-haltiger Interfibrillarsubstanz zu kollagenen Fibrillen wie im höheren Alter.

Es erscheint somit fraglich, ob der absolute Kollagen-Gehalt des Knochens als bestes Maß der Corticoid-bedingten Osteopathie angesehen werden kann, wie von RAAB / 126 / angenommen wird; vielmehr scheint aus den genannten Gründen das Verhältnis von Kollagen zu Mucopolysacchariden oder - in Ermangelung gemessener MPS-Werte - der vom Kollagen repräsentierte Anteil der fettfreien organischen Trockensubstanz ein geeigneterer Parameter des Ausmaßes der Corticoid-Osteopathie zu sein.

Ob man nun wie RAAB den Kollagen-Gehalt in der fettfreien Trokkensubstanz oder, wie beschrieben, den Quotienten Kollagen/ fettfreie organische Trockensubstanz der Auswertung der Versuchsergebnisse zugrunde legt: in jedem Fall ergibt sich ein signifikant verminderter Wert für die Corticoid-Gruppe B, im ersten Fall gegenüber der zusätzlich Calcium-behandelten Gruppe D, im anderen Fall gegenüber der zusätzlich Östrogen-behandelten Gruppe C, wobei die Ergebnisse der übrigen Gruppe jeweils dazwischen lagen. Die Verwendung des vorgeschlagenen Quotienten erlaubt demnach die Schlußfolgerung, daß die Corticoid-Osteopathie bei den Ratten der Serie III durch Östrogen-Behandlung signifikant, durch Calcium-Zufuhr weniger deutlich gebessert worden ist.

Was die zahlenmäßigen Ergebnisse betrifft, so entsprechen die eigenen Werte dem von MC LEAN & URIST / 109 / angegebenen Gehalt von circa 35 % organische Substanz in der fettfreien Trockensubstanz: die Femora der Kontrollgruppe A enthalten in Serie I 36,32 $\pm$ 0,47 %, in Serie II 33,02 $\pm$ 0,86 % organische Substanz in der fettfreien Trockensubstanz; in der Serie III (keine Kontrollgruppe) lag der Durchschnitt aller Einzelwerte bei 35,52 %.

Der Berechnung des Kollagen-Gehalts aus den für Hydroxyprolin bestimmten Werten wurde die Angabe von PIEZ, zit. RAAB / 123 / zugrunde gelegt, daß Knochen-Kollagen zu 9 % aus Hydroxyprolin besteht. Der Kollagen-Gehalt errechnet sich demnach durch Multiplikation des Hydroxyprolin-Gehalts mit dem Faktor 11. Andere Autoren geben dagegen einen höheren Gehalt von beispielsweise 13,4 - 14,0 % Hydroxyprolin im Kollagen an (SCHÜTTE / 141 /), woraus sich ein niedrigerer Kollagen-Gehalt ergeben würde.

Die in Serie III für den Hydroxyprolin-Gehalt bestimmten Werte lagen im Mittel bei 1,98 g/100 g fettfreie Trockensubstanz oder umgerechnet 1,32 g/100 g Frischsubstanz und entsprachen damit dem von RAAB / 126 / angegebenen Normalwert von 1,29 % Hydroxyprolin in der Compacta des Ratten-humerus. Der mittlere Kollagen-Gehalt wurde mit 21,8 g/100 g fettfreie Trockensubstanz, 21,1 g/100 g Trockensubstanz beziehungsweise 14,5 g/100 g Frischsubstanz errechnet. Betrachtet man die für das Verhältnis Kollagen /fettfreier organischer Trockensubstanz bestimmten Zahlenwerte, die normalerweise bei über 90 % liegen (MC LEAN & URIST / 109 /), so weisen die relativ niedrigen Quotienten darauf hin, daß entweder die fettfreie organische Trockensubstanz zu hoch oder der Kollagen-Gehalt zu niedrig bestimmt wurde. Wahrscheinlich trifft beides zu: daß ein gewisser, möglichst konstant zu haltender Wassergehalt in der sogenannten fettfreien Trockensubstanz aus praktischen Gründen unvermeidlich ist, wurde bereits erörtert; dieser liegt, stichprobenartig gemessen (Seite 49) bei 5,7 %. Die in der fettfreien Trockensubstanz direkt bestimmten Werte für Kollagen und Asche-Gehalt werden also im entsprechenden Ausmaß zu niedrig gefunden beziehungsweise der im Differenzverfahren aus dem Mineralgehalt ermittelte Matrix-Gehalt zu hoch bestimmt. Berücksichtigt man ferner, daß der etwa 7 % ausmachende Gehalt des Knochenminerals an Carbonat (HAYEK / 74 /) durch die trockene Veraschung auf 1 % reduziert wird (DULCE / 48 /), so erhöht sich der wahre Wert des Mineralgehalts nochmals beziehungsweise vermindert sich der Gehalt an organischer Substanz entsprechend. Werden diese methodisch bedingten

Abweichungen der gemessenen von den wahren Werten rechnerisch berücksichtigt, ergibt sich für die Gruppe C ein normaler, für die Gruppen D und B ein verminderter Wert von 91,3 % (C), 84,5 % (D) beziehungsweise 79,7 % (B) Kollagen in der fettfreien organischen Trockensubstanz.

10. Mineralsalzgehalt im Knochen

Elementaranalysen und Versuche zur Deutung der Kristallstruktur des Knochenminerals sind seit über 200 Jahren unternommen worden, ohne daß bisher letzte Einigkeit darüber erzielt worden wäre. Nach immer neuen Definitionen der Mineralsubstanz des Knochens, unter anderem als Calcium-Phosphat, Carbonat-Apatit, Hydroxyl-Apatit, Tricalciumphosphat-Hydrat, Octacalciumphosphat oder Octacalciumphosphat-Carbonat (HAYEK / 74 /), sehen die meisten Autoren heute das Vorliegen eines apatitischen Calcium-Phosphats mit Gitterunregelmäßigkeiten als erwiesen an. Außerdem scheinen unter anderem wechselnde, wenn auch geringe Mengen Calcium amorph an das Kristallgitter adsorbiert zu sein (DULCE / 48 /). Es erhebt sich deshalb die Frage, ob neben eventuellen Abweichungen des Mineralsalzgehalts unter pathologischen, Osteoporose-erzeugenden Bedingungen ein unterschiedlicher Calcium- oder Phosphor-Gehalt oder eine veränderte Relation beider Elemente nachweisbar ist.

Bisherige Untersuchungen bei Osteoporose und Corticoid-Behandlung brachten teilweise widersprüchliche Ergebnisse: Nach HAAS / 69 / haben chemische Analysen bei osteoporotischen Knochen eine Verminderung des Mineral-Gehalts von normalerweise 60 % bis auf 20 % ergeben. Auch JOWSEY & GERSHON-COHEN / 90 / beschreiben einen Hydroxyl-Apatit-Mangel-Knochen bei Osteoporose. Im Gegensatz dazu fand EGER / 172 / eine Zunahme des Mineral-Gehalts des Knochens bei Osteoporose. Isolierter Trabekelknochen wies bei seniler Osteoporose normales oder erhöhtes Aschegewicht auf (ARNOLD zit. SCHWARTZ et al. / 171 /).

Bei idiopathischem oder iatrogenem CUSHING-Syndrom bei Tier und Mensch ist nach RAAB / 126 / der Mineral-Gehalt gegenüber den

organischen Anteilen relativ vermehrt; tägliche Injektionen von 10 mg Prednisolon über 7 Tage führten bei Ratten zu keiner Änderung des Mineralsalz-Gehalts im Knochen (BORLE et al. / 23 /).

Der Effekt einer Östrogen-Behandlung auf den Aschegehalt des Knochens bei Ratten besteht nach DAY & FOLLIS / 41 / in einer Zunahme des Mineral-Gehalts.

Unter Calcium-reicher, Phosphat-armer Kost fanden GAUNT & IRVING zit. AHO et al. / 62 / eine Verminderung des Aschegewichts der Rattenknochen.

Für die Beurteilung derart widersprüchlicher Ergebnisse, wie sie für den Mineral-Gehalt des Knochens bei Osteoporose beschrieben sind (Verminderung auf ein Drittel bis Erhöhung), können die folgenden bereits erwähnten Gesichtspunkte von Bedeutung sein:

Erstens sind Untersuchungsergebnisse bei einer bestimmten Osteoporose-Form entsprechend den früher angestellten Erwägungen möglicherweise eben nicht repräsentativ für jede Osteoporose.

Zweitens dürfte ein wesentlicher Teil der unterschiedlichen Befunde auf differierende und im Einzelfall nicht immer bezeichnete Bezugsgrößen zurückzuführen sein: chemische Analysen des Knochens können auf die Gewichtseinheit des untersuchten Gewebes (und hier wiederum auf Frischsubstanz, Trockensubstanz usw.) oder auf die Volumeneinheit des Knochenorgans bezogen werden; eine exakte Bezeichnung der verwendeten Bezugsgröße ist deshalb unerläßlich. Dabei sind definitionsgemäß (Seite 7) bei reiner Osteoporose keine nennenswerten Differenzen in der Zusammensetzung des Knochengewebes zu erwarten. Würden solche Unterschiede jedoch nachgewiesen, müßte man, die Gültigkeit der FOURMANschen Osteoporose-Definition vorausgesetzt, auf das Vorliegen einer anderen Osteopathie oder einer Mischform schließen.

Bezieht man dagegen den Mineralgehalt auf ein bestimmtes Volumen des Knochenorgans, so sind bei einer Osteoporose gleichmäßig verminderte Werte für alle Knochenanteile, bei einer anderen Osteopathie dagegen Veränderungen des Mineral-Gehalts zu erwarten, die nicht allen anderen Bestandteilen der Knochensubstanz

parallel laufen. Solche Untersuchungen sind schon vor Jahrzehnten, beispielsweise von RUTISHAUSER & MAULBETSCH / 135 /, angestellt worden. Sie ergaben erwartungsgemäß, daß der Mineral-Gehalt pro Volumen Knochenorgan bei Osteoporose leichter, bei Osteomalacie stärker vermindert ist. Volumen-bezogene Bestimmungen des Mineral-Gehalts lassen also sowohl eine Knochen-Rarefizierung als auch eine Demineralisierung erkennen; eine Differenzierung beider Zustände ist aber erst auf Grund der unterschiedlichen Zusammensetzung pro Gewichtseinheit Knochengewebe möglich.

Schließlich ist auch die für andere Parameter (Seite 96 ff.) gefundene Abhängigkeit der Hormonwirkung vom Lebensalter der Versuchstiere, von der Hormondosis und der Applikationsdauer in Betracht zu ziehen.

Vergleicht man die Ergebnisse der eigenen Untersuchungen über den Mineral-Gehalt im Knochen, so ist wie für die organische Substanz ein Unterschied zwischen den Gruppen C und D in den Serien I bis III festzustellen: in Serie I ist der Mineral-Gehalt in den Knochen der Gruppe D relativ hoch, verglichen mit der Gruppe C, ohne daß der Unterschied signifikant ist. In Serie II ist er in allen Gruppen identisch. In der Serie III mit der längsten Applikationsdauer und den jüngsten, am stärksten beeinflußbaren Versuchstieren fand sich in der Östrogen-behandelten Corticoid-Gruppe gegenüber der Calcium-behandelten Corticoid-Gruppe ein signifikant höherer Mineral-Gehalt im Knochen; die Werte der nur Corticoid-behandelten Versuchstiere lagen zwischen beiden Gruppen. Die meisten signifikanten Unterschiede in bezug auf alle gemessenen Parameter wurden bezeichnenderweise in Serie III gefunden, obwohl in dieser Gruppe bei fehlendem Normalkollektiv nur drei Gruppen verglichen wurden. Es ist also damit zu rechnen, daß die typischen Knochenveränderungen in dieser Serie am stärksten ausgeprägt waren. Diese Annahme wird dadurch unterstützt, daß die oben (Seite 103) aus der Literatur zitierten Veränderungen des Mineral-Gehalts im Knochen unter Corticoid-, Östrogen- und Calcium-Zufuhr am besten mit den Ergebnissen der eigenen

Serie III übereinstimmen.

Ein unter Corticoid-Behandlung (B) erhöhter Mineral-Gehalt würde demnach durch gleichzeitige Östrogen-Zufuhr erhöht, durch gleichzeitige Calcium-reiche Ernährung vermindert werden.

Was die Zahlenwerte der Ergebnisse betrifft, befinden sich diese in Übereinstimmung mit den Angaben anderer Autoren: Die Femora der Kontrolltiere (A) enthielten im Mittel in Serie I einen Mineral-Gehalt von 42,56 % der Frischsubstanz, 63,04 % der Trokkensubstanz beziehungsweise 63,68 % der fettfreien Trockensubstanz, in Serie II lagen die entsprechenden Werte bei 41,23 %, 64,19 % beziehungsweise 66,98 %. Damit wird die von HESS et al. / 77 / gefundene Zunahme des Mineralgehalts in der fettfreien Trockensubstanz mit dem Lebensalter bei normalen Ratten bestätigt. Angaben über den normalen Mineral-Gehalt in der fettfreien Trockensubstanz des Rattenknochens reichen von 56,1 % bei jungen Versuchstieren (HESS et al. / 77 /) bis 73,7 % bei 130 Tage alten Ratten (BORLE et al. / 23 /).

11. Calcium- und Phosphor-Gehalt und Ca/P-Quotient im Femur

Die Bestimmung des Calcium-Gehalts in der Mineralsubstanz der Femora der verschieden vorbehandelten Ratten erbrachte nur in Serie II signifikante Unterschiede: hier war der Calcium-Gehalt in der Corticoid-Gruppe (B) signifikant gegenüber den Kontrollen (A) erhöht; zusätzliche Östrogen-Therapie (C) kompensierte diesen Corticoid-Effekt, so daß der Calcium-Gehalt der Corticoid- und Östrogen-behandelten Ratten mit dem der unbehandelten Kontrolltiere identisch und von dem der B-Tiere signifikant verschieden war.
Der Calcium-Gehalt der Femora der Gruppe D entsprach zwar ebenfalls dem der Kontrolltiere, der Unterschied zur Gruppe B war aber nicht signifikant.
Diese Ergebnisse scheinen somit, ohne zunächst auf die Veränderungen im einzelnen einzugehen, im Einklang zu stehen mit der sich auch aus anderen Parametern ergebenden Annahme, daß die durch Dexamethason bei Ratten auslösbare Osteopathie durch Östrogen-

Behandlung wirksamer als durch Calcium-Zufuhr verhindert werden kann.

Bei Berechnung des Calcium-Gehalts in der Frischsubstanz, in der Trockensubstanz und in der fettfreien Trockensubstanz sind die in der Knochenasche der Serie II gefundenen Unterschiede nicht mehr signifikant.

In Serie I besteht kein gesicherter Unterschied im Calcium-Gehalt von Gruppe zu Gruppe, weder in der Mineralsubstanz, noch in der fettfreien Trockensubstanz, der Trockensubstanz oder der Frischsubstanz des Knochens.

In Serie III wird der in der Knochenasche bestimmte Calcium-Gehalt, der in allen drei untersuchten Gruppen praktisch identisch ist, bei Umrechnung auf fettfreie Trockensubstanz, Trockensubstanz und Frischsubstanz entsprechend der Höhe des Mineral-Gehalts in diesen verschiedenen Zuständen der Knochensubstanz verändert, so daß in der fettfreien Trockensubstanz der Calcium-Gehalt in Gruppe C signifikant höher als in Gruppe B, bezogen auf die Trokken- und die Frischsubstanz, signifikant höher als in Gruppe D ist.

Aus diesen Verhältnissen geht wiederum hervor, daß bei Angaben über den Gehalt des Knochens an einzelnen Bestandteilen die genaue Bezeichnung der Bezugssubstanz unerläßlich ist, da andernfalls widersprüchliche Ergebnisse resultieren. So liegt in der eigenen Serie III bei der Gruppe D der Calcium-Gehalt in der Knochenasche zwar (unbedeutend) über dem der restlichen zwei Gruppen, bezogen auf Trocken- oder Frischsubstanz jedoch darunter, und zwar signifikant niedriger als in Gruppe C. Das beste Bezugssystem für Angaben über den Calcium- (und Phosphor-) Gehalt des Knochens stellt dabei zweifellos die Knochenasche dar: erstens wird die Analyse meist unmittelbar in Knochenasche-Lösungen durchgeführt, so daß methodisch bedingte Fehler durch vorgeschaltete Untersuchungsschritte vermieden werden; zweitens sind nur in der Knochenasche keine chemischen oder Gewichtsänderungen durch unterschiedlichen Wassergehalt zu erwarten; drittens zeigt die Zusammensetzung der

Knochenasche aus Calcium und Phosphor in allen drei Serien die geringsten prozentualen Unterschiede: die Extremwerte der für jedes einzelne Versuchstier bestimmten Calcium-Gehalte (in Klammern niedrigste und höchste Gruppen-Mittelwerte) in allen drei Serien lagen bei 14,5 und 17,3 (15,1 - 16,7) g/100 g Frischsubstanz, 21,5 und 24,9 (22,2 - 24,4) g/100 g Trockensubstanz, 21,8 und 25,5 (22,5 - 25,2) g/100 g fettfreie Trockensubstanz beziehungsweise 35,4 und 38,3 (36,4 - 37,6) g/100 g Knochenasche.

Die Normalwerte (Gruppe A) wurden mit 36,8 $\pm$ 0,1 g Calcium pro 100 g Knochenasche (Serie I) beziehungsweise 36,6 $\pm$ 0,1 g Calcium pro 100 g Knochenasche (Serie II) bestimmt. Zu dem gleichen Ergebnis kommen LEUTHARD zit. HAYEK / 101 / mit 36,7 % Calcium in der Mineralsubstanz des Knochens allgemein und TAYLOR & KIRKLEY / 151 / mit 36,7 - 37,2 % beim Huhn, während RUTISHAUSER & MAULBETSCH / 135 / im menschlichen Femur 36,1 % Calcium in der Mineralsubstanz und ELLIOT zit. HAYEK / 56 / im Knochenmineral allgemein 35,5 % Calcium fanden. Speziell in der Knochenasche des Rattenfemurs bestimmten BROADWATER & LINDSAY / 25 / den Calcium-Gehalt mit 35,9 $\pm$ 1,8 %; BORLE et al. / 23 / fanden bei jungen Ratten normalerweise 8,365 mMol/kg, entsprechend 33,6 % Calcium in der Knochenasche, bei erwachsenen Ratten 8,316 mMol/kg oder 33,4 % Calcium in der Knochenasche. Berücksichtigt man den schon erwähnten (Seite 102) Carbonat-Verlust von etwa 6 % beim Veraschen, so verringert sich der normale Calcium-Gehalt in Serie I auf 34,6 und in Serie II auf 34,4 % der Mineralsubstanz und liegt damit zwischen den Angaben der erwähnten Autoren für den Rattenknochen. Die niedrigsten und höchsten Werte für den in den Serien I und III bestimmten Phosphor-Gehalt der einzelnen Rattenknochen (in Klammern wieder die extremen Gruppen-Mittelwerte) lagen bei 7,15 und 8,17 (7,37 - 7,94) g/100 g Frischsubstanz, 10,40 und 11,9 (10,66 - 11,6) g/100 g Trockensubstanz, 10,55 und 12,0 (10,79 - 11,8) g/100 g fettfreie Trockensubstanz beziehungsweise 17,0 und 18,3 (17,63 - 18,0) g/100 g Knochenasche.

Der Normalwert wurde in der Gruppe A der Serie I mit 17,74 g Phosphor pro 100 g Knochenasche bestimmt.

Unter Berücksichtigung des erwähnten Carbonat-Gehalts liegt der normale Phosphor-Gehalt in der Knochenasche des Rattenfemurs nach den eigenen Untersuchungen bei 16,7 %.

Vergleichsweise fanden BROADWATER & LINDSAY / 25 / im Rattenfemur 18,6 $\pm$ 1,0 %, BORLE et al. / 23 / ebenfalls im Rattenknochen 5,8 mMol/kg, entsprechend 18,0 %, TAYLOR & KIRKLEY / 151 / beim Huhn 17,0 - 17,3 %, ELLIOT zit. HAYEK / 56 / 52,4 % Phosphat, entsprechend 17,09 % Phosphor, und LEUTHARD zit. HAYEK / 101 / 50,1 % Phosphat, entsprechend 16,34 % Phosphor in der Mineralsubstanz des Knochens allgemein. Im menschlichen Femur fanden RUTISHAUSER & MAULBETSCH / 135 / einen Phosphor-Gehalt von 15,4 % in der Knochenasche. Damit liegen also auch die bei den eigenen Untersuchungen erhaltenen Phosphor-Werte im Bereich der aus der Literatur mitgeteilten Ergebnisse.

Neben dem Calcium- und dem Phosphor-Gehalt in der Knochenasche ist das Verhältnis beider Elemente zueinander von besonderem Interesse.

Beim Vergleich von Zahlenangaben dieses Ca/P-Quotienten ist es wichtig zu unterscheiden, ob sich diese auf molare oder auf Gewichts-Verhältnisse beziehen. Mit Hilfe des Faktors 1,294 können Angaben über den molaren Ca/P-Quotienten in den häufiger verwendeten Quotienten aus prozentualem Calcium- und Phosphor-Gehalt umgerechnet werden.

Auch unter Berücksichtigung der Tatsache, daß die Art des verwendeten Quotienten nicht immer entsprechend gekennzeichnet ist, bewegen sich die Angaben über den Ca/P-Quotienten innerhalb weiter Grenzen. So geben NEUMAN & NEUMAN / 114 / diesen Quotienten mit 1,3 - 2,0 an. Bei den Untersuchungen von AHO et al. / 2 / schwankten die Werte sogar zwischen 1,49 und 2,83 bei unterschiedlich behandelten Ratten, wobei allerdings auch innerhalb der einzelnen Gruppen eine relativ große Streubreite auffällt.

Versuche der möglichst exakten Analyse der Mineral-Zusammensetzung des Knochens "von zwei anerkannten Autoren" (HAYEK / 74 /) ergaben ein Gewichts-Verhältnis Calcium/Phosphor von 2,25 (LEUTHARD zit. HAYEK / 101 /) beziehungsweise 2,08 (ELLIOT zit. HAYEK / 56 /). HAYEK / 74 / selbst gibt den Quotienten mit 1,6 (molares Verhältnis) an, was einem Gewichts-Verhältnis von 2,07 entspricht. Auch aus den von MORGULIS / 112 / angegebenen prozentualen Gehalten der Knochenasche an Calcium und Phosphor (32,9 % Ca, 15,75 % P) ergibt sich ein Quotient von 2,09.

Die eigenen Analysenergebnisse stimmen mit den genannten Werten gut überein. Die für die einzelnen Individuen ermittelten Quotienten liegen zwischen 2,06 und 2,13, die der einzelnen Gruppen zwischen 2,08 und 2,10. Es finden sich keine Unterschiede zwischen den verschieden vorbehandelten Versuchsgruppen. Auffällig ist dabei, daß in der letzten Serie die Werte deutlich stärker streuen als in der ersten. Dazu ist zu bemerken, daß in Serie I versucht wurde, durch eine möglichst große Zahl von Kontroll-Bestimmungen jeden zufälligen Fehler auszuschalten und dem wahren Calcium- und Phosphor-Gehalt der Knochenasche möglichst nahe zu kommen. In Serie III wurden dagegen lediglich die üblichen Doppelbestimmungen durchgeführt. Die dabei gefundenen etwas stärkeren Schwankungen der individuellen Ca/P-Quotienten innerhalb der einzelnen Gruppen dürften somit zumindest teilweise auf die größere Fehlerbreite der Bestimmungen in Serie III zurückzuführen sein.

Zusammenfassend kann über den Ca/P-Quotienten in der Serie I gesagt werden, daß unter den gegebenen Versuchsbedingungen weder die Dexamethason-Behandlung noch die gleichzeitige Zufuhr von Östrogen oder Calcium den Quotienten meßbar verändert hat; unter den Bedingungen, wie sie in Serie III vorlagen, wurden durch zusätzliche Östrogen- oder Calcium-Gaben ebenfalls keine sicheren Abweichungen des Quotienten gegenüber den nur Dexamethason-behandelten Versuchstieren hervorgerufen. Damit wird der

von BORLE et al. / 23 / erhobene Befund, daß bei Ratten unter Prednisolon-Behandlung keine Änderung des Ca/P-Quotienten gefunden wird, auch für Dexamethason bestätigt. Dem widerspricht auch nicht der Befund, daß der absolute Calcium-Gehalt der Knochenasche in Serie II bei den Dexamethason-behandelten Ratten ebenso wie bei den Prednisolon-behandelten Ratten von BORLE et al. / 23 / erhöht war. Durch proportionale Zunahme des Phosphor-Gehalts, wie sie von den genannten Autoren gefunden wurde, bleibt der Quotient unverändert, was aber in der Serie II wegen der hier nicht durchgeführten Phosphor-Bestimmung nicht geprüft werden konnte.

V. Zusammenfassung

1. Nach einleitenden Bemerkungen über das Osteoporose-Problem wird die Ansicht vertreten, daß von den klassischen pathogenetischen Theorien weder die Knochenmatrix- noch die Calcium-Mangel-Hypothese als allein gültig angesehen werden kann. Vielmehr scheint das komplizierte System ineinandergreifender Regulationskreise, deren Verknüpfung im einzelnen kaum bekannt ist, durch sehr unterschiedliche Faktoren störbar zu sein.

2. Es wird gefordert, daß die Pathogenese, Diagnostik und Therapie der verschiedenen Osteoporose-Formen differenziert betrachtet wird und daß alle von der senilen Osteoporose als dem Prototyp der einfachen Osteoporose histologisch oder chemisch unterscheidbaren Formen mit dem allgemeineren Begriff "Osteopathie" bezeichnet werden.

3. In Beschränkung auf die Corticoid-Osteopathie werden die in der Literatur beschriebenen Befunde dargestellt und tierexperimentell die Frage untersucht, ob zwischen normalem Knochen und solchem von Steroid-Osteopathie-Tieren mit chemisch-analytischen Methoden ein signifikanter Unterschied nachzuweisen ist. Ferner wird untersucht, ob eine prophylaktische Calcium-, Fluor- oder Östrogen-Verabreichung bei wachsenden weiblichen Ratten einen Einfluß auf die Knochenzusammensetzung ausübt.

4. Sowohl die aus der Literatur mitgeteilten als auch die eigenen Ergebnisse zeigen zwar Differenzen bei verschiedenem Lebensalter der Versuchstiere und unterschiedlicher Applikationsdauer; die meisten der untersuchten Parameter deuten jedoch darauf hin, daß unter den gegebenen Bedingungen bei Ratten a) eine Corticoid-Osteopathie zu erzeugen war und
   b) deren Entwicklung durch Östrogen-Behandlung wirksamer als durch Calcium- oder Fluorid-Zufuhr verhindert

werden konnte.

5. Die Zusammensetzung der Knochengrundsubstanz scheint unter Steroid-Einfluß verändert zu sein und damit definitionsgemäß das Vorliegen einer Osteopathie anzuzeigen. Der Calcium/Phosphor-Quotient im Knochen war unter den vorliegenden Bedingungen bei allen Versuchsgruppen identisch.

6. Das Verhältnis von Kollagengehalt in der fettfreien Trokkensubstanz zum Gehalt der fettfreien Trockensubstanz an organischer Substanz scheint ein geeigneter Parameter für das Ausmaß einer Corticoid-Osteopathie zu sein.

VI. Literaturverzeichnis

1. ADAMS, P. & J. JOWSEY: Endocrinology 81 (1967) 152
2. AHO, A.J., M. GRÖNROOS, E. RAIJOLA & M. KAJANEN: Acta endocr. 37 (1961) 63
3. ALBRIGHT, F., E. BLOOMBERG & P.H. SMITH: Tr. A. Am. Physicians 55 (1940) 298
4. ALBRIGHT, F. & E.C. REIFENSTEIN: Baltimore. Williams & Wilkins. 1948
5. ALBRIGHT, F., P.H. SMITH & A.M. RICHARDSON: J. Amer. Med. Ass. 116 (1941) 2465
6. BARNETT, H.E. & B.E.C. NORDIN: Clin. Radiol. 11 (1960) 166
7. BARNETT, H.E. & B.E.C. NORDIN: Brit. J. Radiol. 34 (1961) 683
8. BARTELHEIMER, H.: Verhandl. Dtsch. Ges. inn. Med. 62 (1956) 447
9. BARTELHEIMER, H.: in: Anabolikum Kolloquium. Berlin. Medicus. 1964
10. BARTELHEIMER, H.: Verh. Dtsch. Ges. inn. Med. 71 (1965) 613
11. BARTELHEIMER, H.: Internist 11 (1966) 551
12. BARTELHEIMER, H.: Med. Klin. 61 (1966) 1888
13. BARTELHEIMER, H. & A. PAPAGEORGIU: Dtsch. Med. Wschr. 88 (1963) 358
14. BAUER, zit. nach DULCE (Lit. 49)
15. BECK, J.S. & B.E.C. NORDIN: J. Path. Bact. 80 (1960) 391
16. BEGEMANN, H. & W. KABOTH: Internist 8 (1967) 87
17. BELL, G.H., O. DUNBAR & J.S. BECK: Calc. Tiss. Res. 1 (1967) 75
18. BERNICK, S. & B.E. ERSHOFF: Endocrinology 72 (1963) 231
19. BHANDHARKAR, S.D. & B.E.C. NORDIN: Brit. Med. J. 5272 (1962) 145
20. BLODGETT, F.M., L. BURGIN, D. JEZZONI, D. GRIBETZ & N.B. TALBOT: New Engl. J. Med. 254 (1956) 636
21. BOHR, zit. nach KUHLENCORDT, F.: Internist 7 (1966) 552
22. BORLE, A.B.: Documenta Geigy. Acta clin. 2. Basel. 1963
23. BORLE, A.B., G. NICHOLS & M.J. KARNOVSKY: Endocrinology 66 (1960) 508
24. BOSTRÖM, H. & E. ODEBLAD: Ark. Kemi 6 (1953) 39
25. BROADWATER, R.L. & H.A. LINDSAY: Brit. J. exp. Path. 49 (1968) 375

26. BUDY, A.M., M.R. URIST & F.C. McLEAN: Amer. J. Path. 28 (1952) 1143

27. BURKHARDT, R.: Sandorama 9 (1969) 11

28. BURRAGE et al., zit. nach LAAKE (Lit. 100)

29. CALDWELL, R.A.: Brit. J. exp. Path. 43 (1962) 103

30. CARLSSON, A. & B. LINDQUIST: Acta physiol. scand. 35 (1955) 53

31. CLARK, I. & R.F. GEOFFROY: Fed. Proc. 16 (1957) 165

32. CLARK, I., R.F. GEOFFROY & W. BOWERS: Endocrinology 64 (1959) 849

33. CLARK, I. & M.R. SMITH: Endocrinology 74 (1964) 421

34. CLARK, I. & W.W. UMBREIT: Proc. Soc. exp. Biol. Med. 86 (1954) 558

35. COPE, C.L.: Pitman Medical Publishing Co., Ltd. 1964

36. COPP, D.H., E.C. CAMERON, B.A. CHENEY, A.G.F. DAVIDSON & K.G. HENZE: Endocrinology 70 (1962) 638

37. COURVOISIER, B., B. JEANRENAUD, M. JENNY & E. JUBIN: Documenta Geigy. Acta clin. 2. Basel. 1963

38. CURTISS, P.H., W.S. CLARK & C.H. HERNDON: J. Amer. Med. Ass. 156 (1954) 467

39. CUSHING, H.: Bull. J. Hopk. 50 (1932) 137

40. DAVID-CHAUSSE, J. & F. DAVID-CHAUSSE: Sem. Hop. 42 (1966) 13, referiert in: Münch. Med. Wschr. 109 (1967) 1644

41. DAY, H.G. & R.H. FOLLIS: Endocrinology 28 (1941) 83

42. DENT, C.E. & M. FRIEDMAN: Quart. J. Med. 34 (1965) 177

43. DEMARTINI, F., A.W. GROKOEST & C. RAGAN: J. Amer. Med. Ass. 149 (1952) 750

44. DIHLMANN, W.: Fortschr. Röntgenstr. 103 (1965) 308

45. DOLLERUP, zit. nach KUHLENCORDT, F.: Internist 7 (1966) 552

46. DRYER, R.L. & J.I. ROUTH:

47. DUCKWORTH, J. & G.M. ELLINGER: J. Endocr. 7 (1950) 7

48. DULCE, H.J.: in: Anabolikum Kolloquium. Berlin. Medicus. 1964

49. DULCE, H.J.: Melsunger Med. Mitt. 40, 107 (1966) 11

50. DUNCAN, G.W. & J.C. STUCKI: Metabolism 11 (1962) 940

51. DYMLING, J.F.: Internist 7 (1966) 578

52. EGER, W.: Verh. Dtsch. Ges. inn. Med. 71 (1965) 533

53. EGER, W., H. KÄMMERER & G. FUCHS: Langenbecks Arch. klin. Chir. 306 (1964) 205

54. ELIEL, L.P., R. CHANES & J. HAWRYLKO: J. clin. Endocr. 25 (1965) 445

55. ELIEL, L.P., C. THOMSEN & R. CHANES: J. Clin. Endocr. 25 (1965) 457

56. ELLIOT, zit. nach HAYEK (Lit. 74)

57. FISCHER, J.A.: Melsunger Med. Mitt. 40, 107 (1966) 167

58. FLASCHKA, H. & A. HOLASEK: Zschr. physiol. Chem. 288 (1951) 244

59. FOLLIS, R.H.: Proc. Soc. exp. Biol. Med. 76 (1951) 722

60. FOURMAN, P.: Klin. Ernährungslehre 13 (1964) 82

61. FROST, H.M., A.R. VILLANUEVA, J.R. RAMSER & L. ILNICKI: Internist 7 (1966) 572

62. GAUNT & IRVING, zit. nach AHO et al. (Lit. 2)

63. GOSSMANN, H.H.: Med. Wschr. 13 (1957) 443

64. GOSSMANN, H.H.: Med. Welt 17 (1966) 2463

65. GOSSMANN, H.H.: Internist 7 (1966) 236

66. GOSSMANN, H.H., G. BALTZER & H. HELMS: Klin. Wschr. 46 (1968) 497

67. GRIFFITH, G.C., G. NICHOLS, J.D. ASHER & B. FLANAGAN: J. Amer. Med. Ass. 193 (1965) 91

68. HAAS, H.G.: Helvet. Med. Acta 29 (1962) 574

69. HAAS, H.G.: Verh. Dtsch. Ges. inn. Med. 71 (1965) 586

70. HAAS, H.G.: Panorama 2 (1964) 3

71. HAIKE, H., P. HEYMANN & K. WAGNER: Fortschr. Med. 84 (1966) 592

72. HARRISON, M. & R. FRASER: J. Endocrinol. 21 (1960) 197

73. HARRISON, M., R. FRASER & B. MULLAN: Lancet 1 (1961) 1015

74. HAYEK, E.: Klin. Wschr. 45 (1967) 857

75. HEANY, R.P.: Amer. J. Med. 39 (1965) 877

76. HEGGLIN, R.: Differentialdiagnose innerer Krankheiten. 10. Aufl. Thieme. Stuttgart. 1966

77. HESS, A.F., F.S. BERLINER & M. WEINSTOCK: J. Biol. Chem. 94 (1931) 9

78. HEUCK, F.: in Anabolikum Kolloquium. Berlin. Medicus. 1964

79. HIOCO, D.: Dtsch. Med. Wschr. 91 (1966) 1079

80. HIRSCH, P.F., G.F. GAUTHIER & P.L. MUNSON: Endocrinology 73 (1963) 244

81. HOPPE-SEYLER/THIERFELDER: Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemischen Analyse. 10. Auflage. 1953 - 1966.

82. HULTH, A. & S. OLERUD: Brit. J. Exp. Pathol. 44 (1963) 491

83. HURXTHAL, L.M. & N. MUSULIN: Clinical Endocrinology.J. B. Lippincott Comp. 1953, zit. nach REISERT (Lit. 132)

84. JESSERER, H.: Wien. klin. Wschr. 78 (1966) 745

85. JESSERER, H.: Osteoporose. Blaschker. Berlin. 1963

86. JESSERER, H.: in: Anabolikum Kolloquium. Berlin. Medicus 1964

87. JESSERER, H.: Münch. Med. Wschr. 107 (1965) 835

88. JESSERER, H.: Verh. Dtsch. Ges. inn. Med. 71 (1965) 569

89. JOHNSON, zit. nach HAYEK (Lit. 74)

90. JOWSEY, J. & J. GERSHON-COHEN: Proc. Soc. exp. Biol. Med. 116 (1964) 437

91. KEANE, zit. nach KROKOWSKI (Lit. 95)

92. KROKOWSKI, E.: Münch. Med. Wschr. 106 (1964) 1892

93. KROKOWSKI, E.: Verh. Dtsch. Ges. inn. Med. 71 (1965) 607

94. KROKOWSKI, E.: Dtsch. Med. Wschr. 91 (1966) 60

95. KROKOWSKI, E.: Melsunger Med. Mitt. 40, 107 (1966) 69

96. KROKOWSKI, E.: Münch. Med. Wschr. 109 (1967) 1981

97. KROKOWSKI, E., P. SCHÄFER, I. FALCK & P. KOEPPE: Med. Klin. 62 (1967) 1394

98. KUHLENCORDT, F.: in: Anabolikum Kolloquium. Berlin. Medicus. 1964

99. KUHLENCORDT, F., H.-P. KRUSE, C. LOZANO-TONKIN, H. WIENERS & H. BARTELHEIMER: Klin. Wschr. 45 (1967) 1020

100. LAAKE, H.: Acta endocr. 34 (1960) 60

101. LEUTHARD, zit. nach HAYEK (Lit. 74)

102. LIDDLE, G.W., D.P. ISLAND, R.L. NEY, W.E. NICHOLSON & N. SHIMZU: Arch. intern. Med. 111 (1963) 471

103. LINDENBAUM, A. & K.E. KUETTNER: Calc. Tiss. Res. 1 (1967) 153

104. LINDQUIST, B., A.M. BUDY, F.C. McLEAN & J.L. HOWARD: Endocrinology 66 (1960) 100

105. LITTLE, K.: Lancet II (1963) 752

106. LITTLE, K.: M. KELLY & A. COURTS: J. Bone Jt. Surg. 44 B (1962) 503

107. MARTIN, C.J. & A.E. AXELROD: Proc. Soc. exp. Biol. Med. 83 (1953) 461

108. McLEAN, F.C.: Calc. Tiss. Res. 1 (1967) 1

109. McLEAN, F.C. & M.R. URIST: Bone. University of Chicago Press. Chicago, London. 2. Auflage. 1961

110. MILCH, R.A., R.A. RALL & J.E. TOBIE: J. Nat. Cancer Inst. 19 (1957) 8293

111. MOLINATTI, G.M., F. CAMANNI & M. OLIVETTI: Acta endocr. 34 (1960) 323

112. MORGULIS, S.: J. Biol. Chem.: 93 (1931) 455

113. NEUMAN, R.E. & M.A. LOGAN: J. Biol. Chem. 184 (1950) 299

114. NEUMAN, W.F. & M.W. NEUMAN: Amer. J. Med. 22 (1957) 123

115. NEVINNY, H.B.: in: Anabolikum Kolloquium. Berlin. Medicus. 1964

116. NIEPMANN, W.: Klin. Wschr. 39 (1961) 1064

117. NORDIN, B.E.C.: Lancet I (1961) 1011

118. NORDIN, B.E.C.: Melsunger Med. Mitt. 40, 107 (1966) 219

119. NORDIN, B.E.C., E. BARNETT, J. MacGREGOR & J. NISBET: Brit. Med. J. 1 (1962) 1793

120. NORDIN, B.E. C. & R. FRASER: Lancet I (1960) 947

121. NORDIN, B.E. C. & D.A. SMITH: Triangel 6 (1964) 273

122. PAHLKE, G., J.M. SCHMITT-ROHDE & H. BARTELHEIMER: Klin. Wschr. 38 (1960) 919

123. PIEZ, K.A. & R.C. LIKINS: Calcification in biological systems. Washington. 1960, zit. nach RAAB (Lit. 126)

124. POMMER, G.: Rachitis und Osteomalazie. Leipzig. 1885

125. POMMER, G., R. KIENBÖCK & E. LOOSER: Zbl. allg. Path. path. Anat. 35 (1924) 258

126. RAAB, W.: Wien. klin. Wschr. 79 (1967) 944

127. RAMSEIER, E.: Virchows Arch. path. Anat. 336 (1962) 77

128. RASMUSSEN, H. & A. TENENHOUSE: Amer. J. Med. 43 (1967) 711

129. RATHKE, F.W.: Z. Orthop. 89 (1958) 40

130. RAUEN, H.M.: Biochemisches Taschenbuch. Springer. Berlin, Stuttgart, Heidelberg. 1956

131. REED, R.W. & G.C. McMILLAN: Amer. J. med. Sci. 240 (1960) 387

132. REISERT, P.M.: Med. Klin. 61 (1966) 1021

133. REUTTER, F.W., M. PAJAROLA & R. SIEBENMANN: Schweiz. Med. Wschr. 98 (1968) 726

134. RICH, C., E.J. KLINK, G.L. MULLINS & C.B. GRAHAMS: J. clin. Invest. 42 (1963) 970

135. RUTISHAUSER, E. & A. MAULBETSCH: Beitr. path. Anat. 94 (1934) 332

136. Sandoz, Wissenschaftliche Abteilung (Herausgeber): Calcium. 1952

137. SCHATTENFROH, C. & H. BUSE: Dtsch. Med. Wschr. 94 (1969) 1070

138. SCHENK, R.: Sandorama II (1969) 11

139. SCHMITT-ROHDE, J.M.: Internist 3 (1962) 209

140. SCHUSTER, J., W. MEIER-RUGE & F. EGLI: Dtsch. Med. Wschr. 94 (1969) 2334

141. SCHÜTTE, E.: Verh. Dtsch. Ges. Path. 47 (1963) 31

142. SLATER, J.D.H., P.F. HEFFRON, A. VERNET & J.D.N. NABARRO: Lancet I (1959) 173

143. SLOCUMB, C.H.: Proc. Staff Meet. Mayo Clin. 28 (1953) 655, zit. nach DIHLMANN (Lit. 44)

144. SPRAGUE, R.G. et al.: Arch. Int. Med. 85 (1950) 199, zit. nach CURTISS et al. (Lit. 38)

145. STANBURY, S.W.: Amer. J. Med. 44 (1968) 714

146. STOREY, E.: Brit. J. exp. Pathol. 41 (1960) 207

147. STOREY, E.: Clin. Orthop. 30 (1963) 197

148. STRESEMANN, E. & E. KROKOWSKI: Klin. Wschr. 45 (1967) 564

149. STROBINO, L.J. & L.E. FARR: J. Biol. Chem. 178 (1949) 599

150. Wissenschaftliche Tabellen. Geigy. Basel. 6. Auflage. 1960

151. TAYLOR, T.G. & J. KIRKLEY: Calc. Tiss. Res. 1 (1967) 33

152. TEIGELER, R.: Dissertation. Marburg. 1968

153. THAUER, R.: Jb. Max-Planck-Ges. 54, Seite 193

154. THIEMANN, K.J.: Internist 7 (1966) 564

155. THOMAS, L.B., C.E. FORKNER & E. FREI: Cancer 14 (1961) 608, zit. nach DAMBACHER, M., H.P. VITTALI, P. BOTTERMANN & K. SCHWARZ: Verh. Dtsch. Ges. inn. Med. 71 (1965) 890

156. UEHLINGER, E., zit. nach WILLERT (Lit. 167)

157. UEHLINGER, E.: Verh. Dtsch. Ges. Path. 47 (1963) 69

158. UEHLINGER, E.: Melsunger Med. Mitt. 40, 107 (1966) 197

159. URIST, M.R. & N.M. DEUTSCH: Endocrinology 66 (1960) 805

160. VAES, G.M. & G. NICHOLS: Endocrinology 70 (1962) 890

161. VITTALI, H.P.: Knochenerkrankungen. Sandoz. 1970

162. WAGNER, A. & J. SCHAAF: Dtsch. Arch. klin. Med. 207 (1961) 364

163. WEBER, H.: Melsunger Med. Mitt. 40, 107 (1966) 29

164. WELLER, O.: Med. Welt 2, 32 (1963) 1586

165. WESTLIN, N.: Jahrestagung der Schwedischen Medizinischen Gesellschaft. 1970

166. WHEDON, G.D.: Fed. Proc. 18 (1959) 1112

167. WILLERT, H.-G.: Melsunger Med. Mitt. 40, 107 (1966) 123

168. WOLFF, J.: Das Gesetz der Transformation der Knochen. Berlin. 1892

169. WRAY, J.B., E.D. SUGARMAN & A.J. SCHNEIDER: J. Amer. Med. Ass. 183 (1963) 118

170. WYSS, F.: Melsunger Med. Mitt. 40, 107 (1966) 205

171. ARNOLD, zit. nach SCHWARTZ, E., V.A. PANARI-ELLO & J. SAELI: J. clin. Invest. 44 (1965) 1547

172. EGER, W.: in: Anabolikum Kolloquium. Berlin. Medicus 1964

Es sei mir gestattet, an dieser Stelle
Herrn Dozent Dr. med. H.H. GOSSMANN
meinen aufrichtigen Dank für die tatkräftige
Unterstützung der vorgelegten Arbeit zu sagen

Lebenslauf

Am 6.Juli 1940 wurde ich als erstes von zwei Kindern des Arztes Dr. Werner Eisenberg und seiner Ehefrau Elisabeth, geborene Rhode, in Treysa geboren. Von Herbst 1946 bis Ostern 1951 absolvierte ich die Volksschule, von 1951 bis 1960 besuchte ich den altsprachlichen Zweig der Melanchthon-Schule im Steinatal, Kreis Ziegenhain. Nach dem Abitur leistete ich zwölf Monate Wehrdienst.
Ab Sommersemester 1961 habe ich an der Philipps-Universität in Marburg Medizin studiert, wo ich im April 1962 die naturwissenschaftliche und im Oktober 1963 die ärztliche Vorprüfung ablegte. Nach je einem Semester in Wien und München setzte ich mein klinisches Studium in Marburg fort. Hier begann ich mit den experimentellen Arbeiten für meine Dissertation. Im August 1967 habe ich die ärztliche Prüfung in Marburg abgelegt.
Von September 1967 bis Juni 1968 war ich als Medizinalassistent in der Medizinischen Klinik in Marburg unter Prof. G. A. Martini auf verschiedenen Stationen sowie in der der Philipps-Universität angegliederten Urologischen Forschungsstelle in Bad Wildungen tätig, wo ich mich weiter mit den Arbeiten für meine Dissertation beschäftigte. Von September bis Dezember 1968 lernte ich die Tätigkeit eines praktischen Arztes in einer Landarztpraxis kennen. Von Januar bis April 1969 arbeitete ich in der Chirurgischen Universitätsklinik Marburg, die anschließenden zwei Monate nochmals in der Praxis, und von Juli bis Oktober 1969 war ich für die geburtshilfliche und gynäkologische Zeit in der Klinik St. Elisabeth in Marburg tätig.
Nach Erfüllung der Bestimmungen über die Medizinalassistentenzeit mit dem 31.1o.1969 wurde mir am 12.1.197o die Approbation als Arzt erteilt. Seit dem 1.12.1969 befinde ich mich in der Facharztweiterbildung zum Internisten in der I. Medizinischen Klinik der Städtischen Krankenanstalten in Bielefeld bei Prof. J. Klein.